

SÉRIE A, N° 760
N° D'ORDRE
1536

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Paul RAVIN

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

PHARMACIEN-MAJOR DE 1^{re} CLASSE

1^{re} THÈSE. — NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES A L'AIDE DES ACIDES
ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 1^{er} avril 1914, devant la Commission d'examen

MM. MOLLIARD..... *Président.*

MICHEL.....
HÉROUARD..... } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

420, boulevard Saint-Germain, 420

1914



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A, N° 760
N° D'ORDRE
1536

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Paul RAVIN

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

PHARMACIEN-MAJOR DE 1^{re} CLASSE

1^{re} THÈSE. — NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES A L'AIDE DES ACIDES
ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 1^{er} avril 1914, devant la Commission d'examen

MM. MOLLIARD..... *Président.*
MICHEL..... }
HÉROUARD..... } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

420, boulevard Saint-Germain, 420

1914



UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

Doyen.....	P. APPELL, <i>Professeur</i> .	Mécanique analytique et Mécanique céleste.
Doyen honoraire.....	G. DARBOUX, —	Géométrie supérieure.
Professeurs honoraires..	Ch. WOLF. J. RIBAN.	
	LIPPMANN.....	Physique.
	BOUTY.....	Physique.
	BOUSSINESQ.....	Physique mathématique et calcul des probabilités.
	PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	Y. DELAGE.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	Gaston BONNIER.....	Botanique.
	DASTRE.....	Physiologie.
	KOENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.....	Géographie physique.
	GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseign ^t P. C. N.).
	JANET.....	Physique.
	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie.
	PAINLEVÉ.....	Mécanique rationnelle.
Professeurs.....	HAUG.....	Géologie.
	HOUSSAY.....	Zoologie.
	H. LE CHATELIER.....	Chimie.
	G. BERTRAND.....	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale.
	CAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
	C. CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie.
	Emile BOREL.....	Théorie des fonctions.
	MARCHIS.....	Aviation.
	J. PERRIN.....	Chimie physique.
	G. PRUVOT.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	MATRUCHOT.....	Botanique.
	ABRAHAM.....	Physique.
	CARTAN.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	Cl. GUICHARD.....	Mathématiques générales.
	MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
	N.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	N.....	Histologie.
	PUISEUX.....	Mécanique et astronomie.
	LEDUC.....	Physique.
	MICHEL.....	Minéralogie.
	HEROUARD.....	Zoologie.
	L. BERTRAND.....	Géologie.
Professeurs-adjoints...	R. PERRIER.....	Zoologie (Enseign ^t P. C. N.).
	COTTON.....	Physique.
	LESPIEAU.....	Chimie.
	GENTIL.....	Pétrographie.
	SAGNAC.....	Physique (Enseign ^t P. C. N.).
	PÉREZ.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
Secrétaire.....	D. TOMBECK.	

NUTRITION CARBONÉE DES PLANTES

A L'AIDE

DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS

Par Paul RAVIN

INTRODUCTION

L'histoire de la nutrition des plantes vertes se divise en deux périodes bien distinctes : avant et après Liebig. Durant la première, c'est-à-dire jusqu'en 1840, les savants et agronomes croyaient unanimement que les plantes puisaient toute leur nourriture dans l'humus du sol : cette matière brunâtre, produit de décomposition des végétaux morts, dont la constitution reste toujours bien mal définie.

Les idées étaient à ce point arrêtées, que les travaux de Bernard de Palissy, pourtant déjà anciens, puisqu'ils datent de 1563 et ceux de Priestley, 1771, de De Saussure, 1804, de Brongniart, 1828, passèrent inaperçus ou incompris. Ils apportaient cependant des arguments irréfutables contre l'absolutisme de la théorie de l'humus.

Depuis Liebig, au contraire, l'humus est devenu une matière presque indifférente, sans action *directe* sur la production végétale : c'est à peine si on lui reconnaît quelques qualités purement physiques. Et, avec l'illustre fondateur de la théorie de la nutrition minérale, on admet, assez généralement, comme un axiome de physiologie végétale, que les plantes vertes trouvent *uniquement* leur carbone dans l'acide carbonique de l'air,

et leur azote dans les nitrates et sels ammoniacaux du sol (1).

Aucune substance organique, azotée ou carbonée, ne peut donc directement, c'est-à-dire sans avoir subi, au préalable, une transformation en produits simples minéraux, céder son azote ou son carbone à la plante verte ; autrement dit, aucune matière organique n'est un aliment.

Cette théorie, en réalité par trop exclusive, s'est, surtout depuis ces dix dernières années, progressivement mais timidement modifiée.

Les nombreux travaux concernant l'étude de la nutrition organique des plantes vertes ont, en effet, pour beaucoup de phytophysiologistes, atténué l'intransigeance de la théorie minérale. Aussi, tout en reconnaissant à la nutrition aux dépens des substances minérales du sol et de l'acide carbonique de l'air, sa prépondérance indiscutable dans le développement de la plante verte, il est aujourd'hui nécessaire de tenir compte également de la part qui revient à la nutrition organique.

Si je ne considère que la nutrition carbonée à l'aide des substances organiques ternaires, la seule qui m'intéresse ici, la littérature scientifique nous apprend que divers physiologistes s'en sont occupés, parmi lesquels je citerai seulement par ordre chronologique : De Saussure, E. Laurent, J. Laurent, Mazé, Charpentier, Molliard, Mlle Promsy et Kufferath. Tous ces auteurs, sauf Mlle Promsy et Kufferath, se sont surtout intéressés aux hydrates de carbone. Il est pourtant une classe de corps organiques, à fonction chimique importante, dont quelques-uns sont aussi généralement répandus chez les végétaux que les hydrates de carbone et qui n'ont pas été étudiés systématiquement à ce point de vue : je veux parler des acides organiques.

J'ai donc pensé à combler cette lacune, en expérimentant avec ces composés, tout au moins avec ceux que l'on rencontre le plus communément chez les plantes supérieures, ainsi qu'avec leurs combinaisons potassiques qui, souvent, coexistent dans le suc cellulaire végétal.

Quant aux végétaux « non verts », on sait depuis très long-

(1) Exception faite pour les Légumineuses et végétaux à mycorhizes, mais il s'agit là, somme toute, d'une intervention étrangère.

temps qu'ils se nourrissent directement aux dépens de beaucoup de substances organiques. Les opinions n'ont pas varié sur ce point. C'est ainsi que les travaux concernant la nutrition carbonée des Champignons sont extraordinairement nombreux. Certes, les acides organiques y sont souvent traités, quoique moins que les hydrates de carbone, mais plutôt isolément et à l'état libre. Aussi, ai-je pensé que de nouvelles recherches d'ensemble sur quelques-uns de ces composés ternaires, libres et combinés, pouvaient être utilement entreprises.

Dans ce but général, j'ai choisi les acides malique, tartrique, succinique, citrique et oxalique, dont j'ai suivi l'action sur un représentant de chacun des groupes végétaux suivants : les Phanérogames, les Algues et les Champignons.

Ces recherches, dont la technique présente de très grandes difficultés, inhérentes, pour la plupart, au peu de stabilité de ces acides organiques dans les conditions prolongées où je les employais, n'ont d'autre prétention que d'apporter une modeste contribution à l'étude de ce problème physiologique si complexe et si important qu'est la nutrition carbonée.

Ce travail se divisera en trois parties indépendantes, relatives :

- 1° Aux Phanérogames ;
- 2° Aux Algues ;
- 3° Aux Champignons.

PREMIÈRE PARTIE

NUTRITION CARBONÉE DES PHANÉROGAMES A L'AIDE DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS

HISTORIQUE

La plus ancienne expérience sur la nutrition des plantes vertes à l'aide des substances carbonées ternaires est de De Saussure : elle date de 1808. Bien qu'elle n'ait porté sur aucun acide, mais seulement sur le saccharose, il est néanmoins nécessaire de la mentionner très succinctement, pour les conclusions qu'en a tirées l'auteur. Dans deux vases renfermant volumes égaux d'une solution de sucre à 0^{gr},80 p. 100 environ, furent plongés dans l'un, un pied de *Polygonum persicaria* L., dans l'autre, un pied de *Bidens cannabina* (1). Après quelques jours de végétation, les solutions avaient perdu 30 p. 100 de leur saccharose. De ce fait seul, par une déduction qui peut nous paraître bien osée aujourd'hui, De Saussure admit que toutes les substances organiques solubles, y compris les matières ulmiques du sol, étaient utilisées par les végétaux. Si l'on veut bien tenir compte de l'état d'esprit de l'époque où la théorie de l'humus était universellement adoptée et sans conteste, on s'expliquera très bien la facilité et la bonne foi avec lesquelles le savant Genevois généralisa les conclusions de ses modestes essais. Cependant, vers la fin de sa vie, en 1843, il se rallia à la théorie de Liebig, abandonnant ainsi l'opinion étayée sur ses propres recherches.

Sachs, en 1868, dans sa Physiologie végétale, expose ainsi ses idées, en contradiction formelle avec celles de Boussingault et de Grandeau : « Les plantes vertes, non parasites, qui vivent dans un sol très riche, forment leurs substances combustibles, en partie en absorbant les matières organiques, en partie en décomposant l'acide carbonique. »

(1) Duchartre pense qu'il s'agit de l'*Eupatorium cannabinum* L. (Éléments de botanique, 2^e édition, p. 846).

Stutzer, vers 1877, aurait obtenu une augmentation de poids sec en arrosant le sol, non seulement avec de la glycérine, mais encore avec les acides acétique, succinique et tartrique. Ce dernier acide fut tout particulièrement favorable à la végétation, aussi ce savant le soumit-il aux expériences complémentaires suivantes : dans un substratum pâteux, obtenu en délayant du tartrate de calcium pulvérisé avec la solution nutritive de Nobbe, il repiqua des pieds de Navet. Le tout fut mis sous une cloche à la lumière, mais à l'abri de l'acide carbonique de l'air. Les plantes prirent un développement énorme par rapport à des pieds témoins plongés dans la solution de Nobbe.

Petermann, 1883, admet que les substances organiques pénètrent dans le végétal et peuvent concourir à leur nutrition.

E. Laurent, 1888, étudie l'action de 113 corps organiques, azotés surtout, parmi lesquels se trouvent quelques acides : citrique, malique. Il produit l'absorption de ces composés par des fragments de feuilles désamidonnées, ainsi que par des tiges étiolées de pomme de terre et ne constate aucune formation d'amidon.

Acton, 1889, dans une note très courte, présentée à la Société Royale de Londres, annonce qu'il a obtenu la formation de réserves amylacées dans des plantes étiolées, en provoquant l'absorption par les racines de quelques hydrates de carbone et de l'extrait d'humus.

Bréal, 1892, conclut de ses recherches sur l'humus que celui-ci possède des propriétés manifestement fertilisantes.

Dehérain, puis Volny, en 1898, se rangent également à cette opinion. Bréal, complétant ses travaux, en collaboration avec Dehérain, cultive des plantules de Lentille, de Blé et de Haricot dans de l'eau renfermant des sels minéraux et dans une solution d'ulmate de chaux. Celle-ci se montre très favorable au développement des végétaux précédents. Aussi ces auteurs sont-ils convaincus de l'utilisation de l'acide humique.

J. Laurent, 1903, dans une thèse remarquable, a étudié avec beaucoup de soin quelques hydrates de carbone, la glycérine et l'acide humique en combinaison avec la potasse. Ses conclusions concernant cet acide, sont les suivantes : « L'ulmate de

potasse est nutritif pour la plante, mais il agirait à la façon d'un aliment minéral, en modifiant les échanges gazeux de manière à activer l'assimilation du carbone. » Laurent termine son travail par ces lignes d'une haute portée scientifique et philosophique : « Toutes les plantes, vertes ou non, peuvent, à la façon des animaux, emprunter le carbone qui leur est nécessaire à certaines substances organiques, et, exceptionnellement, chez les végétaux renfermant de la chlorophylle ou quelques autres pigments, à ce mode général d'alimentation carbonée vient s'adjoindre la décomposition du gaz carbonique sous l'influence des rayons solaires. »

Moiliard, en 1907, par une méthode très ingénieuse de cultures pures, constate l'utilisation de certains hydrates de carbone, mais les acides malique, oxalique, citrique et tartrique, à des concentrations variant entre 0^{gr},50 et 1 gramme p. 100, ont arrêté toute germination. Nous sommes, dit ce savant, « en présence de substances qui ne peuvent jouer à l'état isolé le rôle d'aliment ».

Je passe rapidement sur ces travaux qui n'ont, pour moi, qu'une minime importance documentaire. En effet, ou bien ils ont été effectués avant l'ère pastorienne, c'est-à-dire dans des conditions expérimentales non aseptiques ; ou bien les acides organiques n'y sont étudiés que très accessoirement. Il en est tout autrement du celui de Mlle Promsy qui, ayant pour titre : « Du rôle des acides dans la germination », comprend une étude remarquable sur l'assimilation des acides organiques, mais durant la germination des graines. Aussi, vais-je l'analyser avec détails, du moins exposer les faits qui ont une relation avec mon sujet. Dans le premier chapitre de sa si intéressante thèse, Mlle Promsy, 1912, détermine l'influence de l'acidité externe (c'est-à-dire l'acidité du milieu dans lequel sont placées les graines) sur la germination de graines de fruits acides : Tomate, Piment, Courge, etc. ; et des graines de fruits à péricarpe sec : Lupin, Lentille, Fève, Blé, Maïs, etc. Le substratum employé est du sable de Fontainebleau humecté avec les solutions des acides organiques suivants : acétique, citrique, tartrique, oxalique et malique dont les concentrations varient entre 0^{gr},50 et 2^{gr},50 p. 1000.

Toutes les expériences sont conduites d'une façon rigoureusement aseptique et Mlle Promsy a constaté que les acides organiques, chez les graines de fruits charnus :

1^o Accéléraient la germination ;

2^o Augmentaient le poids sec ;

3^o Augmentaient la turgescence ainsi que leurs sels, mais ceux-ci ne modifient pas le poids sec ;

4^o Prolongeaient leur action pendant une grande partie de la durée du développement de la plante.

Chez les graines de fruits à péricarpe sec, les résultats obtenus sont moins constants. La germination est tantôt gênée et tantôt, au contraire, accélérée, sans pouvoir établir aucune relation entre ces actions si diverses et la composition de la graine, la famille végétale.

L'influence de l'acidité intérieure sur la germination constitue le deuxième chapitre. Pour obtenir cette acidité, les graines stérilisées sont plongées dans des solutions acides et semées, toujours dans du sable de Fontainebleau arrosé exclusivement avec de l'eau pure. Dans ces conditions, les graines de fruits acides, seules étudiées, ont retiré de cette prise d'acides un bénéfice appréciable.

Dans un troisième chapitre, l'action de l'acidité extérieure a été déterminée dans des milieux nutritifs divers : terreau et sable, additionnés de solutions minérales définies, dont le Knop qui seul m'intéresse. Au début de la germination (graines de Courge et de Tomate), les acides ajoutés au Knop ont produit un effet favorable, bientôt suivi d'une action défavorable : les poids frais et secs ont diminué sensiblement ainsi que les rapports entre les poids frais et secs.

Le quatrième chapitre est consacré à l'acidité intérieure des plantules. Dans les milieux non nutritifs, cette acidité a tantôt augmenté, tantôt diminué, selon, d'une part, la nature des acides, et, d'autre part, l'espèce de graine. En présence de Knop, les acides ont provoqué une augmentation de l'acidité interne chez la plantule (Tomate).

L'absorption des acides organiques par la voie radiculaire est nettement établie dans le cinquième chapitre. Une diminution dans la teneur en acide des solutions mises au contact

des graines en germination a été, en effet, constatée.

Le chapitre sixième comporte l'étude de la respiration des graines qui ont absorbé des solutions acides. Tous les acides élèvent le quotient respiratoire, mais l'intensité est tantôt augmentée, tantôt diminuée.

En résumé, de toutes ses recherches sur la graine, Mlle Promsy est amenée à envisager deux modes d'action de l'acide : il y aurait, d'une part, une action directe qui proviendrait, peut-être, de la transformation des acides en hydrate de carbone sous l'influence de la lumière et une action indirecte qui s'exercerait en accélérant la transformation des matières de réserve.

PLAN

D'après l'historique précédent, il est facile de se rendre compte que la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide des acides organiques n'a guère beaucoup préoccupé les phytophysiologistes : le champ des expériences s'ouvrait donc largement à moi.

Cette partie de mon travail se divisera en cinq chapitres :

Le premier comprendra l'exposé détaillé de la technique, assez délicate, suivie dans ces recherches.

Dans les deuxième, troisième et quatrième, j'indiquerai les résultats obtenus respectivement avec les acides, les sels acides et les sels neutres potassiques. Ces chapitres se diviseront semblablement en paragraphes dont je vais rapidement, après la présentation du dernier chapitre, esquisser la teneur. J'exposerai également les considérations, logiques me semble-t-il, sur lesquelles je me suis appuyé pour les ordonner comme ils le sont.

Le cinquième chapitre comprendra deux paragraphes : le premier concernera l'influence, au point de vue morphologique, des milieux organiques sur le Radis ; dans le second, je résumerai les actions comparées des acides libres, des sels acides, des sels neutres de potassium sur le rendement, la turgescence et l'acidité relative.

Si les acides organiques, libres ou combinés, dont j'étudie

l'action, ajoutés au liquide de Knop, sont des aliments carbonés pour la plante, celle-ci retirera de leur absorption radicale un développement bien supérieur à celui que produira une solution de Knop seule, considérée comme témoin. Il faudra, pour vérifier ce fait, connaître les poids secs (accessoirement les poids frais et les cendres) des récoltes obtenues, d'une part, dans les milieux organiques, d'autre part, dans celui de Knop et les comparer.

Le premier paragraphe sera, dès lors, consacré à la détermination de ces divers poids. Mais, bien que la comparaison des poids secs trouvés dans les deux séries de milieux précédents soit, comme je l'ai constaté, tout à l'avantage des milieux organiques, il y a lieu, néanmoins, de se demander si la fonction chlorophyllienne n'en est pas l'unique cause : elle pourrait très bien, en effet, être excitée par la simple présence des acides organiques. Aussi, pour être exactement fixé sur ce point, j'ai fait des cultures en air confiné. Dans ces conditions, la plante n'a plus à sa disposition que le carbone des acides organiques (1). J'aurai donc à passer en revue les résultats des cultures à l'air libre et en air confiné, ce qui formera deux divisions distinctes de ce paragraphe.

Pour effectuer toutes ces nombreuses cultures, j'ai d'abord utilisé, comme substratum, la pierre ponce que j'ai considérée, pendant la première année de mes expériences, comme le substratum idéal. Mais je me suis ensuite aperçu qu'elle possédait, vis-à-vis de presque tous les acides libres et demi-combinés, un pouvoir catalytique assez énergique. J'ai donc dû rechercher d'autres milieux solides : mon choix s'est arrêté sur le sable de Fontainebleau et l'ouate hydrophile, qui m'ont donné pleine satisfaction. Ils m'ont, en outre, prouvé que si les rendements fournis par la pierre ponce sont entachés d'une erreur en trop, du fait de l'acide carbonique dégagé et assimilé, leur interprétation n'a rien perdu de leur exactitude au point de vue général : j'aurai donc à les discuter. Ceci admis, chacune des deux divisions précédentes du paragraphe devra donc se scinder en

(1) Et celui de l'acide carbonique qu'elle rejette elle-même par la respiration; mais, comme l'a bien démontré Molliard, et comme je l'ai constaté moi-même, cette source de carbone n'augmente pas le poids sec.

autant de parties qu'il y a de substrata utilisés : ponce, sable, ouate.

Après avoir ainsi démontré par ces nombreux essais l'absorption et l'assimilation des acides par la plante, il était intéressant de se rendre compte de leur action sur le chimisme du suc cellulaire. C'est dans ce but que j'ai déterminé les acidités internes des pieds qui se sont développés dans les milieux organiques et témoins. Ces recherches constitueront le deuxième paragraphe dont la disposition sera la même que celle du premier.

Renseigné maintenant sur les changements apportés dans la constitution du suc cellulaire, au point de vue de son acidité résultante, il était assez naturel de penser que les échanges respiratoires devaient être aussi modifiés. L'étude de ces modifications, dans l'obscurité et à la lumière, fera l'objet du troisième paragraphe.

Comme je l'ai déjà dit, l'ordonnance des deux autres chapitres sera entièrement calquée sur celle du premier, mais le troisième concernera uniquement l'action des sels potassiques acides et le quatrième l'influence des sels neutres.

La partie expérimentale proprement dite de mon travail sur les Phanérogames se termine avec ce dernier chapitre. Les résultats obtenus, nombreux et intéressants, ont démontré que les acides organiques apportaient de grands changements dans les fonctions physiologiques de la plante. Mais, comme la morphologie est intimement liée à la physiologie, on peut prévoir dans celle-là quelques variations de caractères, que j'exposerai dans le premier paragraphe du cinquième chapitre. Les actions isolées de chaque acide, de chaque sel acide et neutre sur le Radis, étant ainsi bien déterminées, il est utile maintenant de savoir comment se comportent comparativement l'ensemble des acides libres, l'ensemble des sels acides et l'ensemble des sels neutres. Cette étude comparative formera le deuxième paragraphe.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

1^o *Choir de la plante, sujet d'expérience.* — Toute plante, dans les conditions où elle est placée et que je préciserai plus loin, ne peut être employée pour ce genre de recherches. Il faut, en effet, que sa graine, de préférence sans albumen, se stérilise rigoureusement, sans nuire à sa germination ; que son développement se fasse assez rapidement, mais toutefois sans atteindre des dimensions disproportionnées avec la grandeur du vase, relativement petit, dans lequel elle est renfermée. En outre, il est indispensable que son poids sec, obtenu à la récolte, soit suffisamment appréciable.

Toutes ces nombreuses exigences expérimentales font que peu de plantes soient utilisables, et, parmi elles, le Radis (*Raphanus sativus*, L.), variété ronde, rose à bout blanc, est certainement une des plus avantageuses : c'est donc lui que nous adopterons.

2^o *Triage des graines de Radis.* — Dans le cours de ce travail, nous serons amenés à comparer, entre eux ou avec ceux des milieux témoins, les poids secs des pieds récoltés dans les divers milieux organiques. Pour effectuer ces comparaisons d'une façon exacte, il faudrait partir de plantules ayant rigoureusement le même poids sec. Cette condition est évidemment irréalisable, mais on peut s'en approcher pratiquement d'assez près et connaître le degré d'approximation. Pour cela, on choisit à la balance de précision les graines de Radis dont le poids est supérieur à 12 milligrammes et inférieur à 14. Dans ce lot, ainsi obtenu, nous prélevons, au hasard, quinze séries de trois échantillons (1) que nous pesons.

La plus grande différence de poids constatée entre ces séries est de 3^{mgrs}, 5, ce qui correspond à une moyenne de 1^{mgr}, 2 entre chaque graine. Si maintenant nous débarrassons ces

(1) Le poids sec moyen des pieds récoltés est également déterminé sur une série de trois échantillons.

graines de leur tégument, opération facile après une macération dans l'eau distillée pendant quelques heures et que nous déterminions les poids totaux des trois plantules desséchées à 105°, appartenant aux graines des mêmes triades précédentes, on constate que celles-ci diffèrent entre elles de 6^{mgrs},6 au maximum, ce qui entraîne pour chaque plantule un écart de 2^{mgrs},2 en plus. Nous pouvons donc, en procédant ainsi, comparer entre eux ou avec ceux des milieux témoins, les poids secs des pieds récoltés, avec une approximation connue et suffisante de 2 milligrammes. Le poids moyen d'une plantule desséchée est de 10^{mgrs},3.

3° *Stérilisation des graines de Radis.* — Les graines de Radis, par groupes de cinquante environ, sont mises dans un tube à essai stérilisé, dans lequel on verse 10 à 15 centimètres cubes d'alcool absolu. Ce tube bien bouché avec la pulpe du pouce, préalablement lavé, est agité énergiquement pendant une minute. Cette opération très importante a surtout pour but de « décaper » le tégument de la graine en dissolvant l'enduit, probablement cireux, qui le recouvre et auquel adhèrent fortement les germes que l'on veut précisément éviter. Cet enduit, un peu hydrofuge (1), annihilerait, ou, tout au moins, atténuerait fortement l'action consécutive, si brève, de la solution aqueuse de sublimé. L'alcool absolu est alors décanté et remplacé par 10 à 15 centimètres cubes de solution aqueuse de sublimé corrosif au 1/100^e. Après une nouvelle agitation durant une minute, le liquide est rejeté et on ajoute aussitôt de l'eau redistillée (2) stérile. Ce lavage aqueux, qui exige le même temps que les traitements précédents, est renouvelé dix fois de suite; puis, les graines sont transvasées dans un autre tube stérilisé, bouché à l'ouate. Dès lors, comme la quantité de sublimé qui peut rester encore dans le tégument est infinitésimale, si tant il en

(1) En effet, les graines lavées à l'alcool et plongées dans l'eau se gonflent immédiatement et doublent leur volume en quelques heures, tandis que celles qui n'ont pas subi ce traitement mettent plus de vingt-quatre heures pour arriver au même résultat. L'existence de cet enduit est encore prouvé très facilement, en lavant à l'alcool une certaine quantité de graines; après filtration et évaporation de la liqueur, il reste un léger résidu, insoluble dans l'eau, à aspect cireux.

(2) Redistillée dans un appareil en verre. Je n'ai utilisé que cette eau pour toutes mes expériences.

reste, les lavages aqueux sont espacés de dix minutes pendant la première heure, de quinze pendant la deuxième et enfin de trente minutes durant la troisième.

4° *Ensemencement des graines. — Repiquage des plantules.* — La dernière eau étant en grande partie éliminée, au moyen d'un fil de platine dont l'extrémité est enroulée en spirale conique, comprenant trois ou quatre spires, on prend, comme avec une cuiller, les graines une à une. Chacune d'elles est déposée sur un lit d'ouate humide renfermée dans un tube à pomme de terre, bouché au coton et dont la partie inférieure est garnie d'eau distillée : le tout est, au préalable, stérilisé à l'autoclave. Toutes ces opérations, comme les suivantes, sont conduites avec toute la minutie recommandée en bactériologie.

Les graines ne tardent pas à germer, sauf quelques-unes qui ont été tuées pendant la stérilisation ou qui sont mauvaises. Lorsque la radicule a atteint une longueur de un centimètre environ, ce qui demande deux ou trois jours, on repique les plantules à l'aide d'un crochet en fil de platine, chacune dans un tube dit « à culture », renfermant le substratum imprégné de solution nutritive additionnée ou non d'acide organique, le tout toujours soigneusement stérilisé.

Lorsque toutes ces manipulations sont exécutées avec beaucoup de soin, les contaminations sont assez rares. On peut même les réduire à 2 ou 3 p. 100, si l'on repique la plantule débarrassée du tégument de la graine, auquel adhèrent parfois des germes qui ont échappé à l'action du sublimé.

5° *Description du tube « à culture ». — Milieux nutritifs employés. — Préparation des tubes « à culture ». — Exposition des plantes.* — Le tube « à culture », dans lequel la plantule va se développer, a la forme indiquée par la figure 1. Son volume est de 300 centimètres cubes environ, sa hauteur totale de 25 centimètres et son diamètre de 5. Le goulot, long de 5 centimètres, est bouché avec de l'ouate peu serrée et recouvert d'un capuchon de verre.

Le milieu de culture, de beaucoup le plus employé, est celui de Knop, dont la formule est la suivante :

Azotate de calcium.....	1 gramme.
— de potassium.....	0 ^{gr} ,25

Phosphate acide de potassium.....	(gr, 25
Chlorure de potassium.....	0 gr, 25
Sulfate de magnésium.....	0 gr, 25
Solution de sulfate ferreux au 1/100°.....	11 gouttes.
Eau redistillée.....	1 litre.

additionné des acides organiques libres ou de leurs sels potassiques, dans des proportions telles que volumes égaux renferment rigoureusement, pour la même série d'expériences, le même poids de carbone.

Pour l'acide oxalique, libre et combiné, afin d'éviter sa précipitation, j'ai préparé un milieu sans calcium dont voici la composition :

Azotate de potassium.....	0 gr, 50
Phosphate acide de potassium.....	0 gr, 25
Chlorure de potassium.....	0 gr, 10
Sulfate de magnésium.....	0 gr, 20
Solution de sulfate ferreux au 1/100°.....	11 gouttes.
Eau redistillée.....	1 litre.

Mais cet acide, même combiné (1), se décompose avec une si grande facilité, en présence de n'importe quel substratum, qu'au bout de quelques semaines d'exposition à l'air, il a complètement disparu de ses solutions. En raison de ce fait, je n'ai pas cru devoir indiquer les résultats qu'il m'a donnés.

Des milieux témoins sont faits avec du Knop seul ou additionné de glucose, d'une part et de quelques sels de potassium, chlorure ou sulfate (2), d'autre part. Les poids de ces corps sont calculés de façon que le glucose ait même teneur en carbone que les acides et les composés potassiques, même teneur en métal que les sels organiques. Et cela, dans le dernier cas, afin de se rendre compte, aussi exactement que possible, de l'influence de l'apport potassique des combinaisons organiques.

Comme substrata, j'ai d'abord adopté la pierre ponce, puis le sable de Fontainebleau lavé aux acides minéraux et l'ouate débarrassée de ses impuretés par plusieurs traitements à l'eau redistillée bouillante.

Voyons maintenant comment les tubes « à culture » sont garnis pour recevoir la plantule. Dans chacun d'eux, on intro-

(1) L'oxalate neutre est cependant beaucoup plus stable.

(2) Ces sels ont été choisis parce que le chlore est, à ces doses, indifférent au point de vue nutritif, et l'acide sulfurique, par contre, un excellent aliment.

duit 120 centimètres cubes de ponce ou de sable, on les passe ensuite au four de Pasteur. Après refroidissement, on ajoute 50 centimètres cubes de milieu à essayer pour la pierre ponce et 40 centimètres cubes seulement pour le sable. Ces volumes, déterminés par des essais préliminaires, sont entièrement absorbés par ces substrata, surtout après la stérilisation à l'autoclave à laquelle sont soumis tous les tubes. On obtient ainsi pour la culture du Radis, surtout avec la ponce, des milieux solides bien humectés, dans lesquels les racines se développent aisément. Comme le sable se tassait et aurait pu opposer une trop grande résistance à la pénétration des radicelles, immédiatement avant le repiquage des plantules, j'ai percé un trou central, aussi profond que possible, à l'aide d'une tige de fer stérilisée. Quant à l'ouate, quatre grammes suffisaient pour absorber 50 centimètres cubes de liquide nutritif. Détail important à relater, toujours pour faciliter l'accroissement des racines, l'ouate était utilisée sous forme de bandes de deux centimètres de largeur et placées circulairement contre la paroi du tube les unes sur les autres, de manière à ménager au centre un espace libre intéressant toute la hauteur de ce substratum.



Fig. 1. — Tube « à culture » avec substratum ouate, dans lequel se trouve un pied de radis.

Des cultures en air confiné, à l'abri de l'acide carbonique de l'air, étant nécessaires pour bien mettre en évidence l'action revenant uniquement aux acides absorbés par la voie racinaire, comme je l'ai constaté, il suffisait pour les obtenir, de repousser simplement le tampon de coton dans l'intérieur du goulot et d'obturer hermétiquement celui-ci avec un bon bouchon de liège paraffiné. Puis, avec un pinceau, on déposait dans la rainure formée par le bouchon et le goulot, une couche épaisse de paraffine liquéfiée. Dans ces conditions, la plante n'avait plus à sa disposition, comme source de carbone étran-

gère aux acides organiques, que celui qu'elle rejette elle-même par sa respiration, à l'état d'acide carbonique et qui ne peut augmenter son poids sec.

Aussitôt ensemencés, les tubes dont le coton est préservé contre la pluie par le capuchon de verre, sont tous placés à la même exposition, à l'air libre, contre un mur regardant le nord. Les plantes recevaient ainsi une belle lumière diffuse, mais le soleil ne les frappait jamais directement. La partie du tube renfermant le substratum était, de plus, garnie de papier noir qui réalisait autour des racines une obscurité assez parfaite.

6° *Détermination de la toxicité des acides organiques.* — *Leurs concentrations adoptées.* — J'ai dû, avant tout, ce qui a exigé de nombreux essais préliminaires, déterminer les doses toxiques en milieu Knop pour chacun des acides organiques, afin de me placer dans des conditions favorables pour le développement de la plante. Ces essais, effectués en 1910, avec la ponce comme substratum, m'ont appris qu'il ne fallait pas dépasser, pour beaucoup d'entre eux (1), la dose de 3 grammes p. 1000, sauf pour l'acide oxalique qui était encore nuisible à 1^{er}, 50 p. 1000.

Les milieux organiques d'une même série, renfermaient tous, je le répète, rigoureusement la même quantité de carbone. Les diverses séries sont caractérisées par les concentrations suivantes : le 1/200^e, le 1/100^e et le 1/50^e des poids moléculaires des acides par litre, sauf pour les acides citrique et oxalique dont les doses (2) étaient respectivement les deux tiers et le double des précédentes. Ces dilutions, pour la plupart équimoléculaires, avaient comme avantages, non seulement d'offrir à la plante une même quantité de carbone, mais encore de posséder des pouvoirs osmotiques et des acidités égales, conditions physico-chimiques importantes à considérer dans de telles recherches. Cependant je crois être le premier qui les ait réalisées systématiquement pour les essais de nutrition des composés organiques en général. Voici d'ailleurs, en un tableau,

(1) Ces acides peuvent être classés ainsi, par ordre de toxicité décroissante : succinique, malique ou citrique, tartrique, oxalique.

(2) L'acide citrique est, en effet, un acide en C⁶ et l'acide oxalique un acide en C², tandis que les autres sont en C⁴.

les traductions en grammes p. 1000 des concentrations utilisées, y compris celle du glucose :

	1 ^{re} série.	2 ^e série.	3 ^e série.
Acide malique.....	0,67	1,34	2,68
— tartrique.....	0,75	1,50	3
— succinique.....	0,59	1,18	2,36
— citrique + H ² O.....	0,70	1,40	2,80
— oxalique + 2H ² O.....	1,26	2,52	»
Glucose + H ² O.....	0,66	1,32	2,64

7^o *Préparation des sels acides et neutres de potassium ainsi que de leurs milieux.* — Les sels acides et neutres ont été préparés en ajoutant aux quantités précédentes d'acides, dissous dans très peu d'eau, des proportions, préalablement déterminées, d'une solution de potasse pure. Cette solution doit être suffisamment concentrée pour que le volume total, après neutralisation convenable, ne dépasse pas, pour chaque tube, 25 centimètres cubes pour la ponce ou l'ouate et 20 centimètres cubes pour le sable. On parfait ces volumes avec de l'eau redistillée et il ne reste plus, pour constituer définitivement les milieux, qu'à ajouter 25 ou 20 centimètres cubes de Knop d'une concentration deux fois plus forte que celle donnée plus haut. J'exprimerai les concentrations de ces sels en poids d'acide qu'ils renferment.

8^o *Récolte des pieds de Radis. Leurs poids frais et sec. Dosage de l'eau et des cendres.* — Les récoltes ont été faites au bout de 45, 50 ou 60 jours de végétation; la durée exacte de chacune d'elles sera d'ailleurs indiquée avec les résultats obtenus. Les pieds de Radis avaient à ces époques, en air libre, dix centimètres de hauteur environ et six feuilles bien vertes; en air confiné ils étaient beaucoup moins développés. Je reviendrai d'ailleurs sur leurs caractères morphologiques.

Pour retirer la plante du tube, il suffisait de la saisir à l'aide d'une longue pince : je me suis toujours servi d'une grande pince à forcipressure. Aucune difficulté avec la ponce; mais avec le sable il était indispensable de bien l'humecter d'eau. Avec l'ouate, j'ai dû arracher les pieds aussi complètement que possible et les couper ensuite au niveau du collet, afin d'obtenir des échantillons comparables.

Les racines étaient lavées sous un filet d'eau, en les malaxant délicatement avec les doigts pour détacher les particules solides

qui y adhéraient, puis comprimées légèrement entre des feuilles de papier buvard jusqu'à disparition de toute trace d'humidité extérieure. Les pieds, renfermés aussitôt dans un tube en verre bouché à l'émeri, étaient alors pesés sur la balance de précision par série de trois. Le tiers de ces poids donnait le poids frais moyen du pied.

Le poids sec moyen était ensuite déterminé après une dessiccation à 105° pendant quarante-huit heures.

En possession des poids frais, P , et sec, p , du pied moyen, il est facile de connaître la proportion d'eau qu'il renferme. Je la rapporterai, afin de mieux fixer les idées sur le degré de turgescence du végétal, à un gramme de poids sec : il suffit d'appliquer la formule $\frac{P-p}{p}$.

Les cendres ont été obtenues par calcination des pieds secs, dans une capsule en platine, à une température aussi peu élevée que possible : j'ai opéré, dans ce but, avec une lampe à alcool.

9° *Détermination des diverses acidités végétales : acidité relative, acidité combinée et acidité totale.* — Berthelot et André ont montré « qu'il n'existe aucune relation entre la dose totale des acides végétaux contenus dans une plante, à l'état libre ou combiné et le titre acidimétrique des sucs extraits de ses différentes parties ». Mais on peut obtenir des résultats très approchés, disent-ils, en prenant le titre alcalimétrique des cendres obtenues par l'incinération d'un poids connu de matière sèche et en lui ajoutant le titre acidimétrique du suc. Autrement dit, la teneur en acides totaux d'une plante est très approximativement égale à l'acidité relative (acides libres et demi-combinés) plus l'alcalinité des cendres (acides combinés).

Afin de ne préjuger en rien de la nature de ces acidités, je les exprimerai en centimètres cubes de solution cinquième normale $\left(\frac{N}{50}\right)$ de soude pour un gramme de poids frais.

L'acidité relative est dosée en broyant, dans un mortier en verre, un pied de Radis bien lavé, dont on connaît le poids frais, avec un peu d'eau distillée neutre et de sable siliceux pur. La bouillie ainsi obtenue est diluée et transvasée dans une capsule

en porcelaine ; on rince ensuite convenablement le mortier de façon à parfaire le volume de 40 centimètres cubes environ. Puis l'on porte la capsule au bain-marie bouillant pendant quinze minutes et l'on filtre sur un tampon de coton (1) qu'on lave à l'eau distillée chaude et neutre. Le filtrat obtenu ainsi avec le Radis est le plus généralement incolore et limpide, aussi se prête-t-il parfaitement au dosage acidimétrique en présence de la phtaléine.

La détermination de l'alcalinité des cendres s'effectue de la façon suivante : connaissant le poids frais du végétal, on le dessèche et on le calcine (2) (les sels organiques sont transformés en carbonates et alcalis libres) ; les cendres sont délayées dans une petite quantité d'eau distillée neutre et on ajoute un excès connu de solution sulfurique $\left(\frac{N}{50}\right)$, soit A centimètres cubes. On porte à l'ébullition pendant quelques minutes et on détermine l'acide sulfurique libre au moyen d'une solution de soude $\left(\frac{N}{50}\right)$, soit B le nombre de centimètres cubes trouvé : $(A-B)$ est, en centimètres cubes de soude $\left(\frac{N}{50}\right)$, l'acidité combinée.

Quant à l'acidité totale, il suffit, pour la connaître, d'additionner les deux acidités précédentes.

On rapporte ensuite toutes ces données à un gramme de poids frais.

10° *Échanges gazeux à l'obscurité : coefficient et intensité respiratoires.* — Les échanges gazeux ont été étudiés par la méthode de Bonnier et Mangin, devenue si classique qu'il serait superflu de la décrire. Disons seulement qu'elle consiste à analyser, au début et à la fin de l'expérience, l'atmosphère dans laquelle se trouve la plante. Soumise tout récemment par Maquenne et Demoussy à une vérification très approfondie, ces auteurs la considèrent comme susceptible de fournir des nombres comparatifs utilisables. Je n'ai pas omis de rapporter les quantités d'acide carbonique et d'oxygène à une proportion d'azote égale

(1) Lavé à l'éther et à l'eau chaude.

(2) J'ai utilisé les cendres précédemment obtenues.

à la proportion finale. La respiration produite par le pied entier s'est prolongée durant vingt-quatre heures. Ce laps de temps, nécessaire pour obtenir un changement appréciable de l'air confiné, dont le volume était de 30 centimètres cubes, c'est-à-dire en rapport avec les grandes dimensions du végétal, peut paraître exagéré, mais en réalité la plante n'en souffre pas. J'ai remarqué que l'acidité relative dosée après la respiration était, en général, très diminuée et même, dans quelques cas, transformée en une légère alcalinité. Astruc avait déjà signalé ce fait chez les Crassulacées après huit heures d'exposition à l'obscurité.

L'énergie respiratoire peut être mesurée par le volume, en centimètres cubes, de l'acide carbonique dégagé, n , ou de l'oxygène absorbé, n' , par un gramme de poids frais pendant une heure. Certains auteurs, se basant sur des expériences assez récentes qui prouveraient que l'acide carbonique peut avoir au moins une double origine, préfèrent l'exprimer en oxygène ; d'autres continuent à la représenter en acide carbonique. Je la calculerai des deux façons, ce qui est facile, connaissant la proportion p. 100, m et m' , de chacun des deux gaz après la respiration ; le volume de l'atmosphère confiné, v ; le poids frais du pied, p ; et t , la durée de l'expérience. Il suffit d'appliquer les formules suivantes :

$$n = \frac{10mv}{tp} \qquad n' = \frac{10m'v}{tp}.$$

11° *Analyse de l'air confiné des tubes « à culture »*. — Molliard a indiqué, dans son travail sur « L'action morphogénique de quelques substances organiques », un procédé très ingénieux pour effectuer des prises de gaz dans les cultures en air confiné. En raison du grand nombre de tubes en expérience, qu'il aurait fallu boucher avec des bouchons en caoutchouc traversés par des tubes de verre recourbés, ce procédé devenait un peu trop onéreux et encombrant à employer. Voici le moyen simple que j'ai utilisé : à l'une des extrémités d'un tuyau en caoutchouc de 0^m,50 environ de longueur et d'un diamètre intérieur un peu inférieur à celui du goulot des tubes « à culture », on fixe définitivement et solidement un tube de verre épais à deux

courbures. L'autre extrémité est adaptée successivement au goulot des vases « à culture » dont on veut analyser l'air. On a pris la précaution, après le repiquage des plantules, de fermer hermétiquement ces vases avec des bouchons en liège assez gros pour que la moitié seulement soit incluse dans le goulot et, au moment de la prise de gaz, de tailler l'autre moitié en double biseau, afin d'éviter l'occlusion complète du tube en caoutchouc. Dès lors, le tube « à culture » étant couché horizontalement et l'appareil maintenu vertical, on remplit entièrement ce dernier avec du mercure de façon à ne pas y laisser d'air. On bouche ensuite avec le doigt le tube de verre que l'on plonge dans une cuve à mercure, au-dessous d'une éprouvette pleine de ce métal et renversée. Puis l'on chasse le bouchon de son goulot en effectuant sur lui des pressions digitales. Le mercure coule alors dans le tube « à culture » en déplaçant l'air confiné qui se dégage dans l'éprouvette. On peut activer le dégagement en comprimant énergiquement et par saccades le tube en caoutchouc, ce qui produit un brassage de l'air.

CHAPITRE II

NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES ACIDES ORGANIQUES

Je viens d'exposer avec détails, dans le chapitre précédent, la technique suivie dans ces recherches ; je puis maintenant faire connaître les résultats qu'elle m'a donnés avec les acides libres.

Trois substrata ont été utilisés dans tous mes essais : la pierre ponce, le sable de Fontainebleau et l'ouate hydrophile. Le premier, s'il offre de grands avantages pour la culture du Radis, a, par contre, l'inconvénient, qui de prime abord peut paraître très grave et même motiver son rejet, de produire une décomposition partielle des acides organiques en acide carbonique, dont le carbone est assimilé par les feuilles. Cet apport indirect de carbone intervient donc dans la détermination des poids secs qui se trouvent faussés. Aussi importe-t-il, avan

tout, de s'assurer si les chiffres obtenus avec ce substratum et compris dans les tableaux I, II, VI et VII, qui suivent, ne sont pas entachés d'une erreur trop grande pour être acceptés tels qu'ils sont. Dans l'affirmative, d'étudier la possibilité de les rectifier. Disons de suite que l'augmentation de rendement dû à ce fait est négligeable, eu égard à la grandeur des poids secs trouvés dans les milieux organiques, et aussi, point capital, à leur notable différence avec celui du pied témoin. Dans ces conditions, il m'est permis de considérer les résultats fournis par la ponce comme parfaitement utilisables. Autrement dit, l'assimilation de cette petite quantité de carbone par la voie externe ne change pas le sens des phénomènes constatés dans le cas où cette assimilation n'intervient pas, comme cela est réalisé avec les autres substrata, le sable et l'ouate.

Il est possible, en effet, de déterminer d'une façon assez exacte l'erreur que je viens de signaler dans la fixation du poids sec de la plante. Et cela, en appliquant le raisonnement suivant : si l'on connaît la quantité de gaz carbonique produit par cette décomposition des acides durant la végétation de chaque pied et qu'on la transforme en cellulose ou amidon qui peut en résulter, on obtiendra la part approchée qui revient à cette source de carbone dans le rendement trouvé en poids sec. Je néglige la quantité de matières albuminoïdes et de cendres que ce carbone a pu, peut-être, provoquer : elle est infinitésimale. Néanmoins, si l'on veut pousser l'exactitude plus loin encore, je puis très bien tenir compte de cette augmentation possible de cendres, en comparant l'apport étranger d'hydrate de carbone au poids seul de la *matière organique sèche*, qui peut être facilement déterminé en déduisant du poids sec total de chaque pied le poids de ses cendres.

Si l'on considère la composition de l'air confiné des tubes « à culture », indiquée dans le tableau XXII, relatif aux expériences (1) faites pendant l'été de 1911 qui fut remarquablement chaud et qui produisit la plus forte altération des acides organiques, on remarque que les quantités d'oxygène dégagé, par

(1) Et pour lesquelles, ignorant encore l'action catalytique de la ponce, je n'ai pas fait d'essais pour le contrôle direct de la décomposition partielle des acides.

exemple pour les concentrations égales au 1/100^e des poids moléculaires, sont assez variables. L'acide succinique n'en a dégagé que très peu. Or c'est l'acide qui a donné le plus grand rendement en poids sec, ce qui permet déjà de supposer que l'acide carbonique ainsi formé dans les autres milieux n'a pas dû beaucoup influencer le développement du Radis. Mais serrons la discussion de plus près. Cet oxygène constaté en excédent dans les tubes confinés provient évidemment de l'acide carbonique dégagé par la décomposition des acides, dont le carbone a été assimilé par l'intermédiaire de la fonction chlorophyllienne, puisque, d'une part, la composition de l'atmosphère des tubes témoins, Knop et Knop glucosé, n'a pas varié et que, d'autre part, dans des tubes semblables, mais sans plante, j'ai reconnu, les années suivantes, la présence d'acide carbonique. Comme le volume d'oxygène dégagé représente un même volume d'acide carbonique absorbé, la connaissance du premier donne celle du second.

En possession des données fournies par le tableau XXII, il est facile de déterminer le poids d'acide carbonique dégagé pendant toute la durée de chaque culture, le tube « à culture » ayant un volume (1) de 300 centimètres cubes, et de le transformer en amidon ou cellulose (2).

Voici les chiffres calculés; je mets également en regard l'augmentation de chaque pied en *matière organique sèche* et pour les cultures en air libre et pour les cultures en air confiné.

	Poids total d'acide carbonique dégagé. Milligr.	Poids correspondant de cellulose ou amidon. Milligr.	Augmentation constatée du pied en substance organique sèche	
			en air libre. Milligr.	en air confiné. Milligr.
Acide malique.....	5,4	3,3	48	34,1
— tartrique.....	3	1,8	45,8	28,8
— succinique.....	1,2	0,7	47	43,4
— citrique.....	9	5,5	51	49,4
Knop (témoin).....	»	»	32,8	17

Ces résultats prouvent bien que l'accroissement en substance organique sèche, dû à l'assimilation du carbone de l'acide carbo-

(1) Je ne tiens pas compte du volume du substratum, qui pourtant est le tiers de celui du tube.

(2) Un centimètre cube d'acide carbonique pèse 2 milligrammes et 1 milligramme d'acide carbonique peut fournir 0 milligr. 61 d'amidon ou cellulose.

nique dégagé par la décomposition partielle des acides organiques, a incontestablement une importance dans l'appréciation de l'action comparée des acides sur le Radis, considération secondaire. Mais, considération capitale, ce même accroissement, en air confiné surtout, devient négligeable si l'on compare les poids secs obtenus en milieux acides avec celui du milieu témoin Knop.

On peut m'objecter que l'acide carbonique ainsi produit a pu, peut-être, en air libre, exciter l'assimilation chlorophyllienne et, en air confiné, accroître l'utilisation des acides. Mais ces objections disparaissent par le fait que les autres substrata, qui eux n'entraînent pas de décomposition chez la plupart de ces corps, donnent des résultats dont l'interprétation générale concorde exactement avec celle intéressant la ponce. Aussi cette discussion préliminaire a-t-elle surtout pour but de me permettre de tirer parti des chiffres trouvés avec les cultures de 1911, les seuls que j'ai obtenus au début de mon travail sans m'être assuré directement, par des expériences de contrôle, de l'importance de la décomposition des acides. Car, pour ceux des années suivantes, le tableau XXII indique nettement combien faibles, et partant négligeables, sont les dégagements d'acide carbonique dans les tubes sans plante, sauf pourtant pour ceux renfermant l'acide citrique.

§ 1. — INFLUENCE DES ACIDES ORGANIQUES SUR LE RENDEMENT ET LA TURGESCECE

Les acides organiques, et leurs sels d'ailleurs, étant des agents très énergiques de plasmolyse et de turgescence, ainsi qu'il résulte des travaux de Wiesner, de De Vries, d'Aubert, il m'a paru intéressant de voir de quelle manière ils se comportent dans mes expériences. C'est ce qui m'a engagé à calculer, pour toutes les récoltes, le rapport $\frac{P-p}{p}$, dont j'ai déjà parlé et qui permet d'apprécier la teneur en eau des tissus de la plante.

Le développement de mes cultures s'étant effectué en atmosphères libre et confinée, je vais d'abord m'occuper de ce qui concerne le premier milieu gazeux.

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

J'exposerai, condensés dans des tableaux, les résultats obtenus.

1^o Sur substratum ponce.

2^o Sur — sable.

3^o Sur — ouate.

1^o *Cultures sur ponce.* — Le tableau I mentionne les résultats des recherches poursuivies pendant l'été 1911. Les concentrations des acides sont, dans une première série d'essais, le 1/100^e de leurs poids moléculaires et dans une seconde le 1/50^e, sauf pour l'acide citrique. Mais, je le répète, tous les milieux de la même série renferment la même quantité de carbone et possèdent une égale acidité. Ces conditions se trouveront désormais toujours réalisées. La durée de la végétation est de soixante jours.

TABLEAU I.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	POIDS MOYEN (en milligr.)			$\frac{P - p}{p}$	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	POIDS MOYEN (en milligr.)			$\frac{P - p}{p}$
		du pied		des cendres du pied.			du pied		des cendres du pied.	
		frais.	sec.				frais.	sec.		
<i>Knop</i> (témoin)....	»	899	42,5	9,7	20,1	»	899	42,5	9,7	20,1
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1141	54,6	13,4	19,9	2,64	1334	82,5	14,8	15,2
Acide malique....	1,34	1221	61	12,9	19	2,68	1155	85,6	15,4	12,5
— tartrique....	1,50	811	58,5	12,7	12,8	3	322	37,4	8	7,6
— succinique..	1,18	1052	61,1	14,2	16,2	2,36	1212	71	14	16,1
— citrique	1,40	1235	64	12,8	18,3	2,80	1268	64,4	15	18,8

L'acide tartrique à 3 p. 1 000 s'est montré toxique, il n'y a donc pas lieu de tenir compte des chiffres correspondants.

Le tableau II relate les expériences des années 1912 et 1913 qui n'ont été faites qu'avec une seule concentration (le 1/100^e du poids moléculaire). La décomposition des acides a été ici beaucoup moins accentuée que durant l'été si chaud de 1911 : l'acide succinique, en particulier, s'est comporté comme un corps stable, pour ainsi dire.

TABLEAU II.

Rendement et turgescence de *Radis* cultivés en milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.		
		Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.		Frais.	Sec.	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	807	38	20,3	860	38	21,6
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	839	43	18,5	943	46	19,5
Acide malique.....	1,34	1 035	50	19,7	985	46,5	20,2
— tartrique.....	1,50	837	42	18,9	827	41	17,7
— succinique.....	1,18	1 083	52	20	1 021	48	20,3
— citrique.....	1,40	988	49	19,2	987	47	20

2° *Cultures sur sable.* — Ces cultures ont pour but de contrôler les recherches précédentes ; le sable, en effet, ne provoque qu'une légère décomposition de l'acide citrique seul.

TABLEAU III.

Rendement et turgescence de *Radis* cultivés en milieux « acides » et sur sable.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.					EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 45 jours.				
	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$		
		Frais.	Sec.			Frais.	Sec.			
<i>Knop</i> (témoin).....	»	607	38	14,9	»	689	33,5	19,6		
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1 080	71	14,2	0,66	936	48	18,5		
Acide malique.....	1,34	500	41	11,2	0,67	795	41	18,4		
— tartrique.....	1,50	»	»	»	0,75	190	27	6		
— succinique.....	1,18	864	57	14,2	0,59	925	50,5	17,3		
— citrique.....	1,40	537	51	9,5	0,70	688	40	16,2		

Les concentrations utilisées en 1912 étaient égales au 1/100^e des poids moléculaires des acides, mais, comme j'ai cru remarquer une légère action toxique générale qui m'a été révélée, non pas par les poids secs mais par les phénomènes respiratoires dont je parlerai plus loin, j'ai réduit, en 1913, les concentrations au 1/200^e des mêmes poids moléculaires. Néanmoins l'acide

tartrique à la dose de 0^{sr},75 p. 1 000 est encore nettement nocif; il est vrai qu'il est mortel à 1^{sr},50 p. 1 000. La matière du substratum intervient donc dans la nocivité de cet acide, qui, avec la ponce et pour 1^{sr},50 p. 1 000 a fourni une belle récolte. Nous retrouverons ce fait encore plus accentué avec l'ouate.

3^o *Cultures sur ouate*. — Ces essais, poursuivis pendant l'année 1913, ont été un second moyen de contrôle. Les résultats obtenus constituent le tableau IV.

L'ouate est un substratum qui maintient, mieux encore que le sable, la stabilité des acides; néanmoins, l'acide citrique s'est également un peu décomposé. Au point de vue de la toxicité de ces corps, on peut remarquer qu'elle est plus accentuée qu'avec le sable. C'est ainsi que les acides malique et tartrique, pourtant employés à de petites doses, au 1/200^e du poids moléculaire, comme les autres d'ailleurs, sont mortels pour le Radis.

Je rappelle que les chiffres de ce tableau représentent les poids des pieds dépourvus de leurs racines.

TABLEAU IV.

Rendement et turgescence de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ouate.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.			
	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{p - p}{p}$
		Frais.	Sec.	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	630	27,5	21,9
<i>Knop</i> glucosé.....	0,66	971	39	23,8
Acide malique.....	0,67	»	»	»
— tartrique.....	0,75	»	»	»
— succinique.....	0,59	1 070	48	21,3
— citrique.....	0,70	1 098	57	18,3

Détermination de la stabilité des acides organiques au contact des substrata : sable et ouate. — *Absorption des acides par la roie radiculaire.* — Afin de me renseigner d'une manière directe sur la stabilité, en atmosphère libre, des acides organiques en présence du sable et de l'ouate, j'ai fait les essais suivants : j'ai placé, exactement dans les mêmes conditions que les autres,

des tubes témoins « de culture à blanc », c'est-à-dire des tubes renfermant des milieux identiques aux précédents, mais sans plante. Leur acidité, immédiatement après stérilisation, qui est d'ailleurs la même qu'avant cette opération, comme je l'ai constaté, a été dosée avec une solution décinormale de soude, en présence de la phthaléine ; je l'appellerai « acidité initiale ». Au moment de la récolte du Radis, j'ai dosé à nouveau l'acidité, ainsi que celle des tubes avec plante, je la dénommerai « acidité finale ». Le rapprochement des acidités initiale et finale des tubes témoins, pour le même acide, me documentera sur sa stabilité pendant la durée de la végétation. De plus, si je procède à la comparaison entre les acidités finales d'un tube témoin « à blanc » et d'un même tube avec plante, la différence, si elle est notable, me permettra d'affirmer l'absorption des acides.

Ce procédé, très simple et exact, n'a pu être employé avec la ponce qui, bien que soumise, même à l'état pulvérulent, à de nombreuses lixiviations avec de l'eau chaude, ne cède que partiellement l'acide dont elle est imprégnée. J'ai constaté, en effet, une rétention de ces corps, dont la grandeur varie entre 10 et 30 p. 100. Cette « adsorption », tient à la constitution physique de la ponce et n'est pas, par conséquent, particulière à ces acides organiques.

TABLEAU V.

Acidités initiale et finale des milieux « acides » au contact du sable et de l'ouate.

MILIEUX de culture.	SUBSTRATUM OUATE.			SUBSTRATUM SABLE.		
	Acidité initiale en cent. cubes de soude $\frac{N}{10}$.	Acidité finale en cent. cubes de soude $\frac{N}{10}$.		Acidité initiale en cent. cubes de soude $\frac{N}{10}$.	Acidité finale en cent. cubes de soude $\frac{N}{10}$.	
		Tube avec plante.	Tube sans plante.		Tube avec plante.	Tube sans plante.
<i>Knop</i> (témoin).....	1,9	1,4	1,9	1,3	0,9	1,3
Acide malique.....	6,9	»	6,9	5,3	2,5	5,2
— tartrique.....	6,9	»	6,8	5,3	»	5,3
— succinique.....	6,9	1,3	6,9	5,3	2,1	5,3
— citrique.....	6,9	1,2	6	5,3	2	4,8

La lecture de ce tableau permet de se rendre compte que

l'acide citrique seul est instable. Il permet, en outre, de constater que ces acides organiques sont bien absorbés par les racines du Radis.

Cette absorption m'a d'ailleurs été corroborée par la méthode directe, que j'ai utilisée chez les plantes qui ont poussé dans le substratum ponce : c'était, d'ailleurs, la seule qui m'était offerte pour les raisons que j'ai exposées plus haut. J'ai broyé dans un mortier en verre, à l'aide de sable pur et d'eau, deux pieds de Radis lavés pendant une demi-heure, sous un filet d'eau et provenant du milieu tartrique. La sorte de bouillie ainsi obtenue est chauffée au bain-marie et jetée sur un filtre. Le filtrat évaporé jusqu'à réduction à 2 centimètres cubes environ est traité par le réactif à la résorcine, si sensible, de Denigès, qui m'a fourni une coloration rouge. Encouragé par ce résultat positif, j'ai soumis deux pieds retirés des autres milieux acides au même traitement préparatoire. Par les réactifs mercuriques de Denigès, l'acide citrique a été assez nettement caractérisé et l'acide malique probablement. Les pieds témoins provenant du Knop seul ou glucosé, dans les mêmes conditions, n'ont rien donné avec tous les réactifs précédents. Quant à l'acide succinique, sa recherche, à l'aide du perchlorure de fer, a été négative, mais il faut avouer qu'aucune réaction sensible de ce corps n'est encore connue.

Dans la crainte, exagérée, de ne pas avoir suffisamment lavé les plantes, j'ai procédé, de la même façon, à de nouvelles constations, d'une part avec leur partie aérienne et d'autre part avec leurs racines : j'ai obtenu les mêmes résultats positifs, mais beaucoup plus nets avec les racines qu'avec les tiges et feuilles.

Si maintenant, dans chacun des tableaux précédents relatifs aux rendements et à la turgescence, je compare les résultats trouvés en milieux acides avec ceux obtenus en milieux témoins et que je rapproche ensuite toutes ces comparaisons, on constate que celles-ci sont toutes concordantes et peuvent se résumer ainsi :

En atmosphère libre, les acides organiques étudiés, fournis au Radis comme élément carboné par la voie radiculaire et en cultures pures :

- 1° Sont absorbés par les racines ;
- 2° Augmentent le poids frais, le poids sec, le poids des cendres ;
- 3° Diminuent légèrement la turgescence ;
- 4° Peuvent être classés, d'après leur action favorable décroissante, dans l'ordre suivant : acides succinique, citrique ou malique, tartrique ;
- 5° Pour des concentrations équimoléculaires, leur toxicité vis-à-vis du Radis est variable selon le substratum. La pierre ponce atténuerait beaucoup plus cette propriété que le sable, et celui-ci plus que l'ouate.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

Les expériences en atmosphère confinée, correspondant à la même année et au même substratum, ont été conduites parallèlement à celles en atmosphère libre et, par conséquent, absolument dans les mêmes conditions. Aussi, comme tout ce que j'ai dit précédemment à ce sujet est applicable ici, je serai beaucoup plus bref.

1° *Cultures sur ponce.* — Le tableau VI indique les résultats des recherches effectuées en 1911, et le tableau VII celles des années 1912 et 1913.

TABLEAU VI.

Rendement et turgescence de *Radis cultivés*, en 1911, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	POIDS MOYEN (en milligr.)			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	POIDS MOYEN (en milligr.)			$\frac{P-p}{p}$		
		du pied.					des cendres du pied.	du pied.			des cendres du pied.	
		Frais.	Sec.					Frais.	Sec.			
<i>Knop</i> (témoin).....	»	352	20	3	16,6	»	352	20	3	16,6		
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	404	48,5	9	7,3	2,64	578	75,2	15,4	6,7		
Acide malique.....	1,34	527	38,5	7,4	12,7	2,68	887	66	13,8	12,		
— tartrique.....	1,50	488	36,8	8	12,2	3	»	»	»	»		
— succinique...	1,18	777	54,4	11	12,3	2,36	904	67,4	14,4	13,9		
— citrique.....	1,40	493	58,6	9,4	7,4	2,80	794	63,6	14,9	11,1		

L'acide tartrique à 3 p. 1 000 a été mortel.

TABLEAU VII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.		
		Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	90	9	»	85	7,7	»
Knop glucosé.....	1,32	200	18	10,1	298	21	13,2
Acide malique.....	1,34	349	18	16,7	330	19	16,4
— tartrique.....	1,50	297	20	13,9	243	18	12,5
— succinique.....	1,18	498	27,5	17,1	423	22,3	17,9
— citrique.....	1,40	350	23	14,2	328	20,5	15

Les poids secs moyens des pieds provenant du Knop sont ici légèrement inférieurs au poids de la plantule, contrairement à ce qui s'est passé durant l'année 1911. Cela tient, bien certainement, à la pénurie de chaleur et partant de lumière qui a caractérisé ces deux étés. La constatation de ce fait seul met encore plus en relief l'action bienfaisante des acides et du glucose, qui s'exagérerait lorsque les conditions atmosphériques, favorables à la fonction chlorophyllienne, se trouvent moins bien réalisées. Si cette remarque était fondée, les acides offerts à la plante placée dans l'obscurité devraient compenser l'arrêt de cette fonction chlorophyllienne ; mais je n'ai pas procédé à de telles expériences, ne voulant pas placer le végétal dans des conditions par trop anormales : une plante verte maintenue à l'obscurité est, en effet, un être malade, comme le dit Charpentier.

Au moment de la récolte, les pieds témoins, qui souffraient déjà depuis quelques temps, avaient perdu presque toute leur vitalité. Aussi est-il prudent de ne pas tenir compte de la valeur du rapport $\frac{P-p}{p}$, que je n'ai pas calculé pour cette raison.

2° Cultures sur sable.

TABLEAU VIII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés en milieux « acides » et sur sable.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.				EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 45 jours.			
	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.			Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	60	12	»	»	287	13,5	20,3
Knop glucosé.....	1,32	105	21	4	0,66	331	18,5	18
Acide malique.....	1,34	150	23	5,	0,67	280	16	16,5
— tartrique.....	1,50	»	»	»	0,75	310	25	11,4
— succinique.....	1,48	174	19	8,2	0,59	480	29	15,7
— citrique.....	1,40	149	19	6,8	0,70	340	23	13,7

L'acide tartrique a été mortel à la dose de 1^{re}, 50 p. 1 000. Les pieds témoins de l'année 1912 étaient, lors de leur récolte, sur le point de mourir, aussi le rapport $\frac{P-p}{p}$ n'a pas été déterminé.

3^o Cultures sur ouate.

TABLEAU IX.

Rendement et turgescence de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ouate.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.			
	Concentration p. 1000 (en grammes).	Poids moyen du pied (en milligr.).		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	125	8	»
Knop glucosé.....	0,66	226	11	20,6
Acide malique.....	0,67	460	24,5	18,3
— tartrique.....	0,75	»	»	»
— succinique.....	0,59	467	24	18,4
— citrique.....	0,70	447	23	18,4

L'acide tartrique, malgré sa petite concentration, s'est montré mortel pour le Radis, et les pieds témoins se trouvaient, au moment de la récolte, dans un état de souffrance manifeste : le rapport $\frac{P-p}{p}$ n'est donc d'aucune utilité.

J'ai également déterminé les acidités « initiales et finales » des tubes « à culture » avec plante et sans plante, absolument comme en atmosphère libre. Les résultats trouvés sont absolument de même ordre général, je n'ai donc pas cru devoir les mentionner.

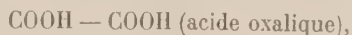
En procédant comme je l'ai fait en air libre, mais en ne tenant compte que des résultats normaux, je puis ainsi résumer les indications des tableaux précédents :

En atmosphère confinée, où l'acide carbonique de l'air ne peut intervenir, les acides organiques étudiés, fournis au Radis par la voie radiculaire et en cultures pures :

- 1° Sont absorbés par les racines;
- 2° Augmentent le poids frais, le poids sec, le poids des cendres;
- 3° Diminuent légèrement la turgescence ;
- 4° Peuvent être classés d'après leur action favorable décroissante dans l'ordre suivant : acides succinique, citrique ou malique, tartrique;
- 5° Quant à l'influence du substratum sur leur toxicité, elle est également variable, comme en air libre, quoique moins nette.

Conclusions du premier paragraphe. — Des nombreux résultats obtenus en atmosphères libre et combinée, et dont la concordance est parfaite, je puis conclure très affirmativement, chez le Radis, à l'absorption par la voie radiculaire et à l'assimilation des acides organiques libres suivants, classés d'après leur action nutritive décroissante : succinique, citrique ou malique et tartrique.

De plus, si l'on examine les formules développées de ces corps ternaires bi-acides, il est intéressant de constater que leur nocivité est due aux groupes fonctionnels acides :



dont le pouvoir est d'autant plus atténué que leur noyau moléculaire renferme un plus grand nombre de radicaux carbures et moins de radicaux alcooliques. C'est ainsi que l'acide succinique, qui comprend seulement deux radicaux carbures, est plus nutritif que l'acide malique qui n'en contient qu'un, et

celui-ci plus que l'acide tartrique qui n'en a plus. Autrement dit, afin de comprendre également dans cette constation l'acide citrique qui est tri-acide : pour la même quantité de carbone et la même acidité, conditions réalisées dans ces expériences, les acides organiques précédents sont d'autant plus favorables au Radis qu'ils sont moins oxygénés. Fait assez démonstratif, les acides citrique et malique, qui possèdent, aux doses utilisées, même teneur en oxygène, approximativement, ont souvent même action nutritive.

Quant à l'acide oxalique, si répandu chez les Phanérogames, bien que son étude n'a pu être poursuivie, à cause de ses grandes instabilité et toxicité, il n'y a pas lieu, je crois, de le considérer comme faisant exception aux autres. Je dirai même, au contraire : une pareille instabilité, qui est un grave défaut dans de telles expériences, doit être une qualité très appréciée par la plante qui en renferme. En effet, la cellule végétale possède ainsi en lui un corps très fragile qu'elle peut, plus facilement encore que les autres, disloquer et entraîner ses débris dans le cycle des transformations chimiques nécessaires à ses fonctions physiologiques. Et l'oxalate de chaux, qui est stable et si commun aussi chez le végétal, constitue probablement pour lui une réserve d'énergie qu'il n'utilisera qu'en cas d'ultime nécessité. Or, comme pareil cas ne se présente que très rarement dans la nature, on comprend facilement pourquoi ce sel organique, figé à l'état de cristaux dans la cellule et parfois abandonné par la plante, par exemple dans la chute de ses feuilles, ait été considéré comme un excreta. Évidemment ce n'est là qu'une hypothèse qui demande une vérification.

§ II. — INFLUENCE DES ACIDES ORGANIQUES SUR L'ACIDITÉ INTERNE DU RADIS

Maintenant que nous connaissons, de l'action des acides organiques sur la plante, le premier terme qui est l'absorption et le dernier qui est l'augmentation de rendement, il serait intéressant au plus haut point d'en déterminer les phases intermédiaires. Mais c'est là un problème bien complexe et non encore résolu. C'est pourquoi les hypothèses émises sur le rôle de ces

acides chez les végétaux sont des plus variées. Certains auteurs prétendent qu'ils servent à neutraliser les bases du sol, d'autres croient qu'ils interviennent dans la formation des matières albuminoïdes ou des hydrates de carbone, dans la turgescence, dans la transpiration, dans l'excrétion des racines, dans l'éthérification des alcools, dans les actions diastasiques, dans les phénomènes respiratoires, enfin dans l'utilisation des sulfates et azotates absorbés. Ma préoccupation, dans ce paragraphe, sera d'étudier quels sont les changements apportés par leur absorption dans l'acidité du suc cellulaire et de déterminer les relations qui peuvent exister entre cette acidité interne et la turgescence. Déjà, De Vries et Aubert ont prétendu qu'il y avait un parallélisme direct entre l'acidité interne et la teneur en eau chez les plantes grasses ; Astruc le nie, du moins chez les Crassulacées. Mlle Promsy a trouvé chez la plantule des plantes ordinaires que ces deux facteurs variaient d'une manière inverse.

Selon l'ordre adopté dans la division de ce travail, j'exposerai d'abord les résultats obtenus avec les cultures en atmosphère libre et ensuite avec celles en atmosphère confinée. Pour chacun de ces milieux gazeux, j'indiquerai les chiffres fournis par les divers substrata : ponce, sable et ouate.

Toutes ces expériences ont été faites en même temps et dans les mêmes conditions que celles du paragraphe précédent.

Les dosages acidimétriques ont été exécutés sur un seul pied de Radis, représentant le développement moyen produit par chaque milieu. Je rappelle que cette acidité est exprimée en centimètres cubes de solution de soude au cinquantième normale et rapportée à un gramme de poids frais. Afin de faciliter la comparaison entre l'acidité et la turgescence, j'inscrirai à nouveau, dans les tableaux qui suivent, les valeurs de celle-ci.

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

1° *Cultures sur ponce.* — Le tableau X concerne les cultures de l'année 1911 dont la durée est de soixante jours.

TABLEAU X.

Acidité interne des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉS (gr. frais) en sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉS (gr. frais) en sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$
		Rela- tive.	Com- binée.	Totale			Rela- tive.	Com- binée.	Totale	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	0,9	4,1	5	20,1	»	0,9	4,1	5	20,1
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1,5	5,4	6,9	19,9	2,64	1,6	4,5	6,1	15,2
Acide malique.....	1,34	1,7	4,3	6	19	2,68	1,7	7,4	9,1	12,5
— tartrique....	1,50	1,5	5,1	6,6	12,8	3	»	»	»	»
— succinique ..	1,18	1,9	4,9	6,8	16,2	2,36	2,1	4,6	6,7	16,1
— citrique.....	1,40	1,6	4,5	6,1	18,3	2,80	1,4	5,6	7	18,8

TABLEAU XI.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.		
	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	0,8	20,3	»	0,9	21,6
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1	18,5	1,32	1,1	19,5
Acide malique.....	1,34	1,3	19,7	1,34	1,2	20,2
— tartrique.....	1,50	1,7	18,9	1,50	1,6	17,7
— succinique	1,18	1,3	20	1,18	1,3	20,3
— citrique.....	1,40	1,4	19,2	1,40	1,3	20

2° *Cultures sur sable.* — Les cultures sur sable (voir tableau XII) ont été faites dans le but, toujours, de contrôler les résultats obtenus avec les cultures sur ponce.

On peut remarquer que la turgescence est souvent en rapport inverse avec la toxicité des acides : c'est ainsi que l'acide tartrique, le plus nocif, déshydrate notablement la plante, avec n'importe quel substratum.

3° *Cultures sur ouate.* — Ces cultures (voir tableau XIII) ont été entreprises pendant l'année 1913 et leur durée a été de 50 jours. L'acidité relative est ici celle de la partie aérienne du pied.

TABLEAU XII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieux « acides » et sur sable.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.		
	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Conce- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	1,2	14,9	»	0,8	19,6
<i>Knop</i> glucosé.	1,32	1,5	14,2	0,66	1,1	18,5
Acide malique.....	1,34	1,5	11,2	0,67	1,2	18,4
— tartrique.....	1,50	»	»	0,75	1,4	6
— succinique.....	1,19	1,8	14,2	0,59	1	17,3
— citrique.....	1,40	1,7	9,5	0,70	1,1	16,2

TABLEAU XIII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « acides » et sur ouate.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉ relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	1,2	21,9
<i>Knop</i> glucosé.....	0,66	1,3	23,8
Acide malique.....	0,67	»	»
— tartrique.....	0,75	»	»
— succinique.....	0,59	1,4	21,3
— citrique.....	0,70	1,5	18,3

L'examen de tous ces tableaux permet de résumer ainsi leur contenu :

Les acides organiques étudiés produisent, en atmosphère libre, sur l'acidité du suc cellulaire du Radis :

1° Une augmentation très appréciable des acidités relative, combinée et totale ;

2° Ces acidités sont le plus souvent en rapport indirect avec la turgescence.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

1° Cultures sur ponce.

TABLEAU XIV.

Acidité interne des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉS (gr. frais) en sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉS (gr. frais) en sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$
		Relative.	Combinée.	Totale			Relative.	Combinée.	Totale	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	1,2	11	12,2	16,6	»	1,2	11	12,2	16,6
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1,6	12,6	14,2	7,3	2,64	1,9	12,6	14,5	6,7
Acide malique.....	1,34	2,2	5,9	8,1	12,7	2,68	1,5	4,5	6	12,4
— tartrique....	1,50	2	8,8	10,8	12,2	3	»	»	»	»
— succinique ..	1,18	3,1	8	11,1	13,3	2,36	1,9	7,4	9,3	13,9
— citrique.....	1,40	1,8	9,3	11,1	7,4	2,80	1,8	6	7,8	11,1

TABLEAU XV.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 50 jours.		
	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (r. frais).	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	1,2	»	»	1,1	»
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1,4	10,1	1,32	1,5	13,2
Acide malique.....	1,34	1,7	16,7	1,34	1,6	16,4
— tartrique.....	1,50	1,6	13,9	1,50	1,5	12,5
— succinique	1,18	1,8	17,1	1,18	1,3	17,9
— citrique.....	1,40	1,5	14,2	1,40	1,4	15

2° Cultures sur sable.

TABLEAU XVI.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en milieu « acides » et sur sable.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée : 50 jours.			EXPÉRIENCES DE 1913. Durée : 45 jours.		
	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Concen- tration p. 1000 (en gr.).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	2,5	4	»	1,4	20,3
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	2,6	4	0,66	1,8	18
Acide malique.....	1,34	4,1	5,5	0,67	1,7	16,5
— tartrique.....	1,50	»	»	0,75	1,9	11,4
— succinique	1,18	4,9	8,2	0,59	1,6	15,7
— citrique.....	1,40	4,6	6,8	0,70	1,8	13,7

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU XVII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « acides » et sur ouate.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	ACIDITÉ relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	1,7	»
Knop glucosé.....	0,66	1,8	20,6
Acide malique.....	0,67	2,9	18,3
— tartrique.....	0,75	»	»
— succinique.....	0,59	3	18,4
— citrique.....	0,70	3,1	18

En procédant comme je l'ai fait pour l'atmosphère libre, je puis résumer ainsi les résultats consignés dans les tableaux précédents :

Les acides organiques étudiés, en atmosphère confinée, produisent sur l'acidité interne du pied de Radis :

- 1° Une augmentation de l'acidité relative ;
- 2° Une diminution des acidités combinée et totale ;
- 3° L'acidité relative n'a plus ici, dans ses variations comparées avec celles de la turgescence, la régularité constatée en air libre.

Il est assez surprenant de trouver dans les milieux acides seulement une diminution très marquée de l'acidité combinée ; alors que l'acidité relative est augmentée.

Conclusions du deuxième paragraphe. — Les acides organiques fournis au Radis par la voie radiculaire, aussi bien en atmosphère libre qu'en air confiné, augmentent l'acidité relative du suc cellulaire. Or, c'est l'acidité la plus importante à considérer car elle est la plus apte à produire des synthèses dont le végétal est le siège.

Les acidités combinées et totales sont augmentées en atmosphère libre et diminuées en atmosphère confinée : il est bien difficile d'expliquer cette différence.

L'acidité relative varie nettement et régulièrement, en atmosphère libre, en sens inverse de la turgescence.

§ III. — INFLUENCE DES ACIDES ORGANIQUES SUR LES ÉCHANGES GAZEUX

On sait, d'après les travaux de Krauss, Warburg, Purjewicz, Mangin, Gerber, Aubert, Astruc, que les acides organiques jouent un rôle important dans la respiration et que leur formation et leur destruction influent non seulement sur le quotient respiratoire, mais encore sur l'intensité des échanges gazeux.

Maquenne, le défenseur de la théorie bio-chimique, leur attribue un rôle essentiel dans la fonction respiratoire et les considère comme « des réservoirs d'oxygène combiné qui se remplissent et se vident tour à tour suivant les circonstances qui président au développement de la plante ».

Les expériences des auteurs précédents ont porté, les unes sur des plantes grasses ou fruits acides qui renferment une quantité notable d'acides organiques, les autres sur des plantes ordinaires, mais chez lesquelles on introduisait ces corps à doses massives : Mangin, en particulier, injectait des solutions à 2 ou 3 p. 100, dans les feuilles. Ici, au contraire, l'accroissement de l'acidité relative du suc cellulaire est nette, mais faible ; il était donc d'autant plus intéressant d'en rechercher les effets sur la fonction respiratoire, qui, d'après Palladine, « est le phénomène physiologique indiquant avec le plus de précision, l'activité vitale des plantes, car il est intimement lié à la plupart des réactions qui s'effectuent dans le végétal ».

Déjà Mlle Promsy, dans ses recherches sur la germination des graines, a constaté que les solutions acides faibles, de 1^{gr},50 à 3 p. 1000, provoquaient chez celles-ci une augmentation régulière du quotient respiratoire, mais que les intensités respiratoires étaient tantôt accrues, tantôt, au contraire, diminuées.

Si je considère maintenant les échanges gazeux à la lumière, Mayer, Aubert, Gerber, Astruc et Mangin ont signalé les faits curieux suivants : les plantes grasses dégagent tantôt de l'acide carbonique ou de l'oxygène, tantôt un mélange des deux, et les

plantes ordinaires injectées d'acides organiques exhalent une proportion assez forte d'oxygène.

Astruc a démontré que chez les premières, pour une même température, ces divers dégagements étaient régis par l'intensité de l'éclairement. Le dégagement d'oxygène ainsi produit viendrait de la décomposition à l'intérieur même des tissus végétaux, par la fonction chlorophyllienne, de l'acide carbonique provenant, d'une part, de la respiration et, d'autre part, de la dislocation de la molécule acide organique.

Mon but, dans ces expériences sur les échanges gazeux, est donc de vérifier, si c'est possible, par cette méthode synthétique, toutes les données que je viens d'exposer.

A. — ÉCHANGES GAZEUX DANS L'OBSCURITÉ.

Leur étude comprend la détermination du quotient et de l'intensité respiratoires de Radis développés en atmosphère libre.

1^o *Cultures sur ponce*. — Les déterminations consignées dans le tableau XVIII ont été obtenues après une respiration du pied entier pendant six heures. Comme ce laps de temps m'a paru insuffisant pour modifier très nettement la composition de l'atmosphère confinée, je l'ai prolongé jusqu'à vingt-quatre heures dans toutes les autres expériences.

TABLEAU XVIII.

Quotient et intensité respiratoires de pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ respiratoire (cent. cube gr. heure).		CONCENTRATION p. 1000 (en grammes.).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ respiratoire (cent. cube gr. heure).	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin) ..	»	0,67	0,096	0,143	»	0,67	0,096	0,143
<i>Knop</i> glucosé...	1,32	0,88	0,053	0,060	2,64	0,95	0,070	0,073
Acide malique ..	1,34	0,72	0,087	0,120	2,68	0,92	0,087	0,095
— tartrique ..	1,50	0,76	0,093	0,122	3	»	»	»
— succinique.	1,18	0,73	0,091	0,124	2,36	0,60	0,077	0,120
— citrique ...	1,40	1,1	0,087	0,079	2,80	0,93	0,084	0,090

TABLEAU XIX.

Quotient et intensité respiratoires de pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (cent. cube gr. heure).	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin).....	»	0,86	0,060	0,070
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	0,95	0,058	0,061
Acide malique.....	1,34	0,92	0,053	0,058
— tartrique.....	1,50	0,94	0,046	0,050
— succinique.....	1,18	0,89	0,040	0,051
— citrique.....	1,40	0,95	0,058	0,061

2° Cultures sur sable.

TABLEAU XX.

Quotient et intensité respiratoires de pieds de Radis cultivés en milieux « acides » et sur sable.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1912. Durée de la respiration : 24 heures.				EXPÉRIENCES DE 1913. Durée de la respiration : 24 heures.			
	Concentration p. 1000 (en grammes).	Quotient respiratoire.	Intensité respiratoire (cent. cube gr. heure).		Concentration p. 1000 (en grammes).	Quotient respiratoire.	Intensité respiratoire (cent. cube gr. heure).	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin) ..	»	0,76	0,045	0,060	»	0,68	0,048	0,71
<i>Knop</i> glucosé ..	1,32	0,91	0,063	0,070	0,66	»	»	»
Acide malique ..	1,34	0,88	0,080	0,090	0,67	0,78	0,041	0,052
— tartrique ..	1,50	»	»	»	0,75	»	»	»
— succinique,	1,18	0,82	0,057	0,079	0,59	0,80	0,043	0,053
— citrique ...	1,40	0,92	0,077	0,084	0,70	0,84	0,046	0,055

Les chiffres de l'année 1912, intéressant l'intensité respiratoire, sont en contradiction avec ceux obtenus avec les cultures sur ponce ; celle-ci, en effet, a provoqué des intensités plus faibles que celles du milieu témoin. Soupçonnant, sur ces cultures sur sable, une action légèrement toxique, qui, comme l'on sait, a la propriété d'accroître l'intensité respiratoire, j'ai diminué, l'année suivante, de moitié les concentrations et ai alors trouvé des résultats concordants avec ceux fournis avec les cultures sur ponce et ouate.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU XXI.

Quotient et intensité respiratoires de pieds de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « acides » et sur ouate.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 1000 (en grammes).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (cent. cube gr. heure).	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin).....	»	0,72	0,59	0,082
<i>Knop</i> glucosé.....	0,66	»	»	»
Acide malique.....	0,67	»	»	»
— tartrique.....	0,75	»	»	»
— succinique.....	0,59	0,89	0,048	0,054
— citrique.....	0,70	0,84	0,048	0,057

L'examen de ces tableaux montre, avec une régularité parfaite, en faisant abstraction des chiffres relatifs au milieu sableux pour lesquels les concentrations étaient trop fortes, que les acides organiques étudiés, absorbés par la Plante et par la voie radiculaire :

1° Augmentent le quotient respiratoire;

2° Diminuent l'intensité respiratoire.

B. — ÉCHANGES GAZEUX A LA LUMIÈRE.

C'est-à-dire la détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec ou sans plante pendant la durée de la culture.

Au moyen de l'appareil simple que j'ai décrit dans la partie technique de mon travail, j'ai analysé l'air confiné de tous les tubes au moment de la récolte du Radis. Pour les cultures des années 1912 et 1913, renseigné que j'étais sur l'action catalytique de la ponce vis-à-vis des acides organiques, j'ai également déterminé la composition de l'air confiné des tubes sans plante. Je pouvais ainsi me rendre compte de la stabilité ou non de ces corps, et, de plus, connaître la part afférente à leur assimilation dans les modifications de l'air confiné. Afin de ne pas compliquer outre mesure les tableaux qui suivent, au lieu de donner la composition complète de l'air confiné, je

n'indiquerai que les quantités d'oxygène ou d'acide carbonique qui s'y trouvent : les seules données numériques utiles.

1^o *Cultures sur ponce.* — Les résultats obtenus en 1913 sont approximativement les mêmes que ceux de l'année 1912 : il n'y a donc pas lieu de les exposer.

TABLEAU XXII.

Échanges gazeux à la lumière de Radis cultivés en milieux « acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1911. (Durée des cultures : 60 jours.)				EXPÉRIENCES DE 1912. (Durée des cultures : 50 jours.)		
	Tubes avec plante.				CONCENTRATION p. 1 000 (en grammes)	Tubes avec plante.	Tubes sans plante.
	Concen- tration p. 1 000. (en gr.)	Volumed'O dégagé p. 100. (en cent. c.)	Concen- tration p. 1 000. (en gr.)	Volumed'O dégagé p. 100. (en cent. c.)		Volumed'O dégagé p. 100. (en cent. c.)	Volumed'O dégagé p. 100. (en cent. c.)
<i>Knop</i> (témoin). . .	»	0	»	0	»	0	0
<i>Knop</i> glucosé. . . .	1,32	0	2,64	0	1,32	0	0
Acide malique. . . .	1,34	0,9	2,68	1,2	1,34	0,5	0,3
— tartrique. . . .	1,50	0,5	3,	»	1,50	0,4	0,2
— succinique. . . .	1,18	0,2	2,36	0,3	1,18	0,08	0
— citrique. . . .	1,40	1,5	2,80	2,5	1,40	1	0,8

On peut remarquer que la décomposition des acides dans les tubes avec plante est, en 1911, la plus forte, cela tient à ce que l'été de cette année, comme je l'ai bien souvent dit, fut tout particulièrement chaud. Dans les tubes sans plante, l'acide succinique s'est montré stable et les acides malique et tartrique très légèrement instables : ces faits concernent les années 1912 et 1913 dont les étés furent plutôt frais.

2^o et 3^o. *Cultures sur sable et ouate.* — J'ai réuni dans le même tableau les différents chiffres trouvés avec le sable et l'ouate.

Les cultures sur sable de l'année 1912 ont été étudiées après cinquante jours de végétation et celles de l'année 1913 au bout de quarante-cinq jours. De plus, les doses des acides organiques s'étant montrées d'abord légèrement toxiques, je les ai diminuées ensuite de moitié. Il résulte de ces différentes conditions expérimentales, auxquelles ont été soumis les corps ternaires, que la décomposition des acides malique et surtout citrique est moins forte en 1913 qu'en 1912.

TABLEAU XXIII.

Echanges gazeux à la lumière de Radis cultivés sur sable et ouate.

MILIEUX de culture.	CULTURES SUR SABLE						CULTURES SUR OUATE.		
	EXPÉRIENCES DE 1912. (Durée : 50 jours.)			EXPÉRIENCES DE 1913. (Durée : 45 jours.)			EXPÉRIENCES DE 1913. (Durée : 50 jours.)		
	CONCENTRATION p. 1 000. (en grammes.)	Tubes		CONCENTRATION p. 1 000. (en grammes.)	Tubes		CONCENTRATION p. 1 000. (en grammes.)	Tubes	
		avec plante.	sans plante.		avec plante.	sans plante.		avec plante.	sans plante.
		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)
Knop (témoin)....	»	0	0	»	0	0	»	0	0
Knop glucosé.....	4,32	0	0	0,66	0	0	0,66	0	0
Acide malique.....	1,34	0,17	0,06	0,67	0,09	0,06	0,67	»	0
— tartrique....	1,50	»	0	0,75	»	0	0,75	»	0
— succinique..	1,18	0	0	0,59	0	0	0,59	0	0
— citrique.....	1,40	0,67	0,41	0,70	0,5	0,57	0,70	0,9	0,53

Les acides organiques, sauf citrique, peuvent être considérés comme stables.

Dans une note communiquée à l'Académie des sciences, basée sur l'interprétation des premiers résultats obtenus avec la ponce, dont je ne soupçonnais pas encore l'action catalytique, j'avais annoncé que tous les tubes confinés renfermaient un excès d'oxygène que j'attribuais aux acides absorbés et assimilés par la plante. Cette explication me paraissait d'autant plus rationnelle qu'Aubert et Astruc, en particulier, l'avaient déjà donnée pour le même fait, constaté chez les plantes grasses et Mangin chez les plantes ordinaires injectées d'acides organiques. J'étais alors bien loin de penser que cet oxygène était la conséquence de l'assimilation de l'acide carbonique produit par la décomposition externe de ces composés ternaires. Aussi dois-je ici rectifier les conclusions de cette note, pour ce qui a trait seulement à l'origine de l'oxygène trouvé en excès dans les tubes confinés.

L'examen des tableaux précédents démontre, en effet, que les acides absorbés par le Radis et qui pourtant augmentent légèrement son acidité relative, ne changent pas, à la lumière, la composition de l'atmosphère confinée. Il n'est pas inutile de dire que Mangin, pour obtenir un dégagement d'oxygène appréciable,

ciable, a dû injecter les feuilles de ses plantes avec des solutions acides très concentrées : 2 à 3 p. 100. De telles conditions expérimentales sont loin d'être réalisées ici.

Afin de se rendre bien compte de l'action nutritive générale et comparée des acides entre eux et avec le milieu témoin Knop, j'ai calculé les moyennes (pour les résultats normaux) des rendements, de la turgescence et de l'acidité relative, en atmosphères libre et confinée, indiqués dans tous les tableaux précédents et par conséquent avec tous les substrata. Voici les chiffres trouvés :

TABLEAU XXIV.
Moyennes générales des résultats obtenus pour chaque milieu de culture.

MILIEUX de culture.	ATMOSPHERE LIBRE.					ATMOSPHERE CONFINÉE.				
	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.
Knop (témoin)....	749	36,3	9,7	19,7	1	166	11,7	3	18,4	1,5
Knop glucosé.....	1035	54,9	14,1	18,5	1,3	306	30,5	12,2	11,4	1,8
Acide malique....	949	54,2	14,2	16,8	1,4	422	29,3	10,6	14,1	2,2
— tartrique....	825	47,1	12,7	16,4	1,6	335	24,9	8	12,5	1,8
— succinique .	1032	55,4	14,1	17,9	1,5	532	34,8	12,7	15	2,5
— citrique....	972	53,2	13,9	17,2	1,4	414	32,8	12,2	12,4	2,3

CONCLUSIONS DU PREMIER CHAPITRE. — Les acides organiques libres, tels que les acides malique, tartrique, succinique, citrique et très probablement oxalique, fournis au Radis comme aliment carboné par la voie radiculaire, sont absorbés par la plante. Ils provoquent chez elle, soit en air libre, soit en air confiné, où toute ingérence du carbone atmosphérique est réduite à néant, une augmentation très nette des poids frais, des poids secs, des cendres, de l'acidité relative et une diminution de la turgescence. De plus, le quotient respiratoire est accru et l'intensité des échanges gazeux atténuée.

Ces acides organiques libres sont donc bien assimilés par la plante.

Utilisés, comme ils l'ont été, à des doses telles qu'ils renferment poids égaux de carbone et la même acidité, ils peuvent se classer ainsi, d'après leur action nutritive décroissante sur le Radis : acides succinique, citrique ou malique, tartrique et

oxalique. C'est, au contraire, leur ordre de toxicité croissante.

Une relation étroite existe entre leur composition chimique et leur nocivité, partant leur nutritivité, elle peut se formuler ainsi : la toxicité de ces acides organiques est due surtout aux groupes fonctionnels acides ($\text{COOH} - \text{COOH}$), et, pour une égale acidité, elle est d'autant plus atténuée que leur noyau, s'il existe, possède un plus grand nombre de radicaux carbures CH^2 avec moins de radicaux alcooliques, secondaires ou tertiaires (CHOH , COH). Autrement dit, ces acides sont d'autant plus toxiques et moins nutritifs qu'ils sont plus oxygénés, par rapport au même poids de carbone, condition également réalisée dans ces expériences.

CHAPITRE III

NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES « SELS ACIDES ORGANIQUES »

J'ai établi, dans le deuxième chapitre, que les acides organiques libres constituaient indubitablement des aliments pour la plante ; suivant le plan adopté, je vais maintenant m'occuper de leurs sels acides de potassium.

Ces composés, comme l'on sait, coexistent pour ainsi dire toujours avec les précédents et il est à prévoir que, possédant encore dans leur molécule une fonction acide active, celle-ci manifestera toujours son action bienfaisante sur le végétal. Mais, à côté de cette fonction acide, se trouve un métal, le potassium, qui est un précieux aliment minéral.

Aussi, pour distinguer, autant que cela se peut, la part qui revient à ce dernier dans le rendement du Radis qui se développe en présence du sel organique, j'ai constitué des milieux témoins spéciaux et supplémentaires. Ceux-ci sont formés, les uns, par addition à la solution de Knop de chlorure de potassium et les autres, de sulfate de potassium : le chlore est un élément indifférent au point de vue nutritif et le soufre, un bon aliment.

Dans chaque série de cultures, les quantités de ces compo-

sés minéraux sont calculées de façon à ce qu'ils aient même teneur en potassium que les sels organiques. D'autre part, ceux-ci, je le rappelle, ont été préparés en neutralisant, dans des proportions convenables, les mêmes poids d'acides organiques libres que ceux qui ont été utilisés dans le chapitre précédent. Aussi, pour garder la même uniformité dans l'exposé des résultats qui vont suivre, je n'indiquerai pas, pour les divers milieux organiques expérimentés, leur concentration en sel acide mais bien celle en acide que le sel renferme.

La division de ce chapitre est identique à celle du premier, ainsi d'ailleurs que les conditions expérimentales, pour les essais effectués la même année et pour la même série.

§ I. — INFLUENCE DES « SELS ACIDES » SUR LE RENDEMENT ET LA TURGESCE

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

Comme pour les acides libres, je m'occuperai successivement des cultures ; 1^o sur ponce ; 2^o sur sable ; 3^o sur ouate.

1^o *Cultures sur ponce.* — La durée des cultures est de soixante jours.

TABLEAU XXV.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$
		Du pied.		Des cendres du pied.			Du pied.		Des cendres du pied.	
		Frais.	Sec.				Frais.	Sec.		
<i>Knop</i> (témoin)....	»	899	42,5	9,7	20,1	»	899	42,5	9,7	20,1
<i>Knop</i> + <i>K Cl.</i>	»	900	43,4	10,8	20	»	967	47,4	12,4	19,6
<i>Knop</i> + <i>K²SO⁴</i>	»	984	46	11,7	20,4	»	987	50,1	12,2	18,7
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1141	54,6	13,4	19,9	2,64	1334	82,1	14,8	15,2
Malate monopotas.	1,34	1058	58	13	17,2	2,68	1153	70,5	14	15,3
Tartrate —	1,50	1082	52,8	12,2	20	3	1027	63,4	17,4	15,3
Succinate —	1,18	1175	65	16,7	17,1	2,36	1209	70	16	16,3
Citrate —	1,40	1097	59,2	14	17,6	2,80	1000	67	14	14
Citrate bipotas....	1,40	1118	56	15,4	20,2	2,80	1164	63,2	14	17,5

Le milieu contenant le chlorure de potassium modifie très

peu le rendement des cultures de la première série, par rapport à celui du milieu Knop; aussi, dans les tableaux suivants, afin de ne pas les compliquer inutilement, je n'indiquerai que les chiffres se rapportant au sulfate de potassium.

Les cultures qui suivent ont été récoltées après cinquante jours de végétation.

TABLEAU XXVI.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	807	38	20,3
Knop + K ² SO ⁴	»	860	40	20,5
Knop glucosé.....	1,32	839	43	18,5
Malate monopotassique.....	1,34	1234	55	21,8
Tartrate —	1,50	700	39	16,9
Succinate —	1,18	1279	59	20,7
Citrate —	1,40	1250	53	22,6
Citrate bipotassique.....	1,40	1127	49	22

Tous les sels sont nettement plus favorables au Radis que le sulfate de potassium, pour l'année 1911; mais, pour 1912, le tartrate de potassium paraît légèrement toxique.

2° Cultures sur sable.

TABLEAU XXVII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	607	38	14,9
Knop + K ² SO ⁴	»	600	42	13,3
Knop glucosé.....	1,32	1080	71	14,2
Malate monopotassique.....	1,34	834	43	18,4
Tartrate —	1,50	244	39	3,3
Succinate —	1,18	740	47	15,4
Citrate —	1,40	806	45	17
Citrate bipotassique.....	1,40	920	50	17,4

Même action peu favorable du tartrate et, de plus, les autres sels ne fournissent pas un rendement beaucoup plus élevé que celui du sulfate de potassium.

Mais déjà, pour les acides libres, j'ai signalé une action générale légèrement toxique et spéciale à ce substratum.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU XXVIII.

Rendement et turgescence de *Radis cultivés*, en 1913, dans les milieux « sels acides » et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	630	27,5	21,9
Knop + K^2SO^4	»	623	27	22
Knop glucosé.....	0,66	971	39	23,8
Malate monopotassique.....	0,67	1126	47,5	22,7
Tartrate —	0,75	»	»	»
Succinate —	0,59	1240	50	23,8
Citrate —	0,70	1277	53	23,1
Citrate bipotassique.....	0,70	1120	45,5	23,6

Le tartrate, bien qu'employé à une faible dose, est encore mortel, mais les autres sels donnent de très beaux rendements.

Stabilité des sels acides organiques en présence des divers substrata. — J'ai fait, à ce sujet, les mêmes essais que pour les acides libres. Les résultats obtenus montrent que les sels dont l'acide libre était instable, dans le chapitre précédent, sont également décomposés, mais moins que les acides correspondants.

Quant à leur absorption par les racines, elles est très vraisemblable, *a priori*, ne serait-ce que par analogie avec les acides libres. Mais, en dosant l'acidité finale, c'est-à-dire au moment de la récolte, des milieux avec plante, j'ai constaté que la plupart d'entre eux étaient alcalins, alors que les milieux témoins, Knop seul ou renfermant les sels minéraux, étaient, au contraire, encore acides.

L'explication de ce fait ne peut être que la suivante : l'acide libre du sel est d'abord absorbé et ensuite une quantité plus

ou moins grande de l'acide combiné, ce qui produit la mise en liberté d'un poids correspondant de potassium.

Si, maintenant, je rapproche et compare les chiffres des tableaux précédents, je puis les interpréter ainsi :

En atmosphère libre, les sels acides organiques de potassium étudiés, fournis au Radis, comme élément carboné, par la voie radiculaire et en cultures pures :

1° Sont absorbés par les racines ;

2° Augmentent le poids frais, le poids sec et le poids des cendres ;

3° Tantôt augmentent, tantôt diminuent la turgescence : mais, si l'on fait la moyenne arithmétique des valeurs trouvées pour chaque sel acide et qu'on la compare à celle des valeurs concernant le milieu de Knop, on constate qu'elle est, en somme, légèrement diminuée ;

4° Peuvent être classés, d'après leur action favorable décroissante, dans cet ordre : succinate, citrate monopotassique, malate, citrate bipotassique, tartrate ;

5° Ici encore le substratum ponce est, pour une même concentration, celui que le Radis préfère ;

6° Toutes ces actions bienfaisantes sur le Radis doivent être attribuées surtout à l'acide organique.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

1° *Cultures sur ponce.* — La durée de ces cultures est toujours, en 1911, de soixante jours.

Les milieux renfermant le chlorure de potassium ne modifiant que très peu le rendement des cultures de la première série, par rapport à celui du milieu Knop, exactement comme cela s'est passé en atmosphère libre, je n'ai pas cru devoir compliquer inutilement les tableaux des autres années, en consignant les chiffres se rapportant à ce sel minéral.

Les cultures de 1912, dont la durée est de cinquante jours, sont moins florissantes que celles de 1911. La cause doit être surtout attribuée aux circonstances atmosphériques qui ont été moins favorables en 1912 qu'en 1911.

TABLEAU XXIX.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$
		Du pied.		Des cendres du pied.			Du pied.		Des cendres du pied.	
		Frais.	Sec.				Frais.	Sec.		
Knop (témoin)....	»	352	20,	3,	16,6	»	352	20,	3,	16,6
Knop + K Cl.....	»	380	19,	7,4	19,	»	651	34,4	12,4	17,9
Knop + K ² SO ⁴	»	433	24,3	6,5	17,	»	493	31,2	7,2	14,8
Knop glucosé.....	1,32	404	48,5	9,	7,3	2,64	578	75,2	15,4	6,7
Malate monopotas.	1,34	626	45,2	11,2	12,8	2,68	862	56,	13,4	14,4
Tartrate —	1,50	290	30,4	8,4	8,5	3,	685	49,2	13,	12,9
Succinate —	1,18	616	43,	12,1	13,3	2,36	661	50,	12,6	12,2
Citrate —	1,40	557	42,	12,	12,3	2,80	625	50,	12,	11,5
Citrate bipotassiq.	1,40	697	37,4	8,	17,6	2,80	560	42,	15,	12,3

TABLEAU XXX.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCEN- TRATION en acide p. 1 000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin)	»	90	9	»
Knop + K ² SO ⁴	»	100	10	»
Knop glucosé.....	1,32	200	18	10,1
Malate monopotassique.....	1,34	711	47	14,1
Tartrate —	1,50	310	23	12,5
Succinate —	1,18	430	41	16,8
Citrate —	1,40	580	32	17,1
Citrate bipotassique.....	1,40	350	17	19,6

Les pieds témoins qui se sont développés dans le Knop seul et additionné de sulfate de potassium n'ont guère profité — ils étaient dans un état de souffrance manifeste au moment de la récolte — ce qui fait d'autant plus ressortir l'action nutritive des sels acides qui ont produit de beaux rendements. Pour la même raison exposée chez les acides libres, je n'ai pas calculé la turgescence des pieds témoins.

2° Cultures sur sable.

TABLEAU XXXI.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCEN- TRATION en acide p. 1 000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	60	12	»
Knop + K ² SO ⁴	»	72	13	»
Knop glucosé.....	1,32	105	21	4
Malate monopotassique.....	1,34	295	31	8,5
Tartrate —.....	1,50	100	14	6,1
Succinate —.....	1,18	210	17	11,4
Citrate —.....	1,40	200	18	10,1
Citrate bipotassique.....	1,40	300	27	9

Ici encore, les pieds témoins étaient, au moment de la récolte, presque morts et ont peu gagné de poids sec sur celui de la plantule d'où ils proviennent.

3^o Cultures sur ouate.

TABLEAU XXXII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « sels acides » et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCEN- TRATION en acide p. 1 000. (en grammes)	POIDS MOYEN du pied (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	225	8	»
Knop + K ² SO ⁴	»	154	6	»
Knop glucosé.....	0,66	226	11	20,6
Malate monopotassique.....	0,67	585	24	23,7
Tartrate —.....	0,75	»	»	»
Succinate —.....	0,59	550	24	21,9
Citrate —.....	0,70	420	22	14,2
Citrate bipotassique.....	0,70	543	21,5	24,2

Le tartrate, comme l'acide tartrique, a été mortel pour le Radis. Et les pieds témoins ont diminué de poids sec par rapport à celui de leur plantule.

En procédant comme je l'ai fait en air libre, je puis ainsi résumer les résultats de ces dernières recherches :

En atmosphère confinée, les sels acides organiques de potassium, fournis au Radis par la voie radiculaire et en cultures pures :

- 1° Sont absorbés par les racines ;
- 2° Augmentent le poids frais, le poids sec et le poids des cendres ;
- 3° Diminuent légèrement la turgescence ;
- 4° Le malade prendrait ici le premier rang au point de vue de l'action favorable, ensuite, viendraient le succinate, le citrate monopotassique, le tartrate et le citrate bipotassique ;
- 5° La ponce est toujours le meilleur substratum ;
- 6° L'influence heureuse de ces sels sur le rendement doit être attribuée à l'acide organique. Cette constatation est d'autant plus nette que tous les pieds témoins, sauf ceux de l'année 1911, qui se sont développés dans le milieu Knop seul ou additionné de sulfate de potassium, étaient sur le point de mourir au moment de la récolte, alors que les Radis provenant des milieux organiques avaient une réelle vigueur, comme l'attestent les rendements obtenus.

Conclusions du premier paragraphe. — Des expériences précédentes, poursuivies aussi bien en atmosphère libre qu'en air confiné, je puis conclure très affirmativement, chez le Radis, à l'absorption et à l'assimilation des sels acides organiques de potassium, dont l'action nutritive est surtout due à l'acide organique.

§. II. — INFLUENCE DES « SELS ACIDES » SUR L'ACIDITÉ INTERNE

Je vais d'abord m'occuper, toujours d'après l'ordre adopté, des cultures en air libre et ensuite de celles en air confiné ; et, pour chacun de ces milieux gazeux, j'exposerai les résultats de mes recherches avec les divers substrata : ponce, sable et ouate.

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

1° Cultures sur ponce.

TABLEAU XXXIII.

Acidité interne des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$
		Relative.	Com- binée.	Totale.			Relative.	Com- binée.	Totale.	
<i>Knop</i> (témoin)....	»	0,9	4,1	5	20,1	»	0,9	4,1	5	20,1
<i>Knop</i> + K Cl.....	»	1	4,5	5,5	20	»	0,9	4,2	5,1	19,6
<i>Knop</i> + K ² SO ⁴	»	1,1	4,7	5,8	20,4	»	1,2	4,2	5,4	18,7
<i>Knop</i> glucosé....	1,32	1,5	5,4	6,9	19,9	2,64	1,6	4,5	6,1	15,2
Malate monopotas.	1,34	1,3	4,3	5,6	17,2	2,68	1,3	4,1	5,4	15,3
Tartrate.....	1,50	1,7	4,6	6,3	20	3	1,6	7,7	9,3	15,3
Succinate.....	1,18	1,6	4,1	5,7	17,1	2,36	1,6	3,8	5,4	16,3
Citrate.....	1,40	1,2	5,4	6,6	17,6	2,80	1,5	4,7	6,2	14
Citrate bipotassiq.	1,40	1,3	5,4	6,7	20,2	2,80	1,6	6,9	8,5	17,5

TABLEAU XXXIV.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1 000. (en grammes.)	ACIDITÉ RELA- TIVE (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$
<i>Knop</i> (témoin).....	»	0,8	20,3
<i>Knop</i> + K ² SO ⁴	»	0,9	20,5
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	1	18,5
Malate monopotassique.....	1,34	1	21,8
Tartrate.....	1,50	1,3	16,9
Succinate.....	1,18	1,2	20,7
Citrate.....	1,40	1	22
Citrate bipotassique.....	1,40	1,1	21

2 et 3°. *Cultures sur sable et ouate.* — Comme on peut le constater, je n'ai pas fait de cultures sur ponce pendant l'année 1913, puisque les résultats des deux années précédentes concordaient rigoureusement. De même les chiffres obtenus sur sable en 1912, dont le but est de contrôler les précédents, étant également concordants avec ces derniers, il était inutile de procéder à de nouvelles expériences.

L'acidité relative des cultures sur ouate, je le rappelle, est celle de la partie aérienne du pied de Radis.

TABLEAU XXXV.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieux « sels acides » sur sable et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CULTURES SUR SABLE (expériences de 1912).			CULTURES SUR OUATE (expériences de 1913).		
	Concentration en acide p. 1 000 (en gr.)	Acidité relative. (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$	Concentration en acide p. 1 000 (en gr.)	Acidité relative. (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	1,2	14,9	»	1,2	21,9
Knop + K ² SO ⁴	»	1,3	13,3	»	1,1	22
Knop glucosé.....	1,32	1,5	14,2	0,66	1,3	23,8
Malate monopotassique...	1,34	1,3	18,4	0,67	1,4	22,7
Tartrate — ...	1,50	3,6	5,3	0,75	»	»
Succinate — ...	1,18	1,4	15,4	0,59	1,3	23,8
Citrate — ...	1,40	1,3	17	0,70	1,4	23,1
Citrate bipotassique.....	1,40	1,2	17,4	0,70	1,2	23,6

Je puis ainsi résumer tous ces résultats : les sels acides organiques de potassium fournis au Radis, en atmosphère libre, produisent sur l'acidité interne :

- 1° Une légère augmentation des acidités relative et combinée ;
- 2° Une augmentation très nette de l'acidité totale ;
- 3° L'acidité est, le plus souvent, en rapport inverse avec la turgescence ;
- 4° Ces actions sont surtout dues à l'acide que renferment ces sels organiques.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

1° *Cultures sur ponce.* — J'ai déjà signalé, au sujet des rendements et de la turgescence des Radis, aussi bien en milieux « acides » qu'en milieux « sels acides », que l'air confiné, comparativement à l'air libre, produisait chez la plante une déshydratation. Celle-ci entraîne donc une diminution de la turgescence ; aussi ne faut-il pas s'étonner de constater ici encore une augmentation de l'acidité relative. Néanmoins, elle sera moins nette et moins constante que chez le Radis qui a poussé dans les milieux acides.

La durée des cultures de l'année 1911 est toujours de soixante jours, et celles de 1912, de cinquante jours.

TABLEAU XXXVI.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1000. (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.)			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1000. (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.)			$\frac{P-p}{p}$
		En sol. de soude $\frac{N}{50}$					En sol. de soude $\frac{N}{50}$			
		Rela- tive.	Com- binée.	Totale.			Rela- tive.	Com- binée.	Totale.	
Knop (témoin). . .	"	1,2	11,	12,2	16,6	"	1,2	11,	12,2	16,6
Knop + KCl.	"	1,1	4,5	5,6	19	"	0,9	4,7	5,6	17,9
Knop + K ² SO ⁴	"	0,9	4,4	5,3	17	"	1,2	4,3	5,5	14,8
Knop glucosé.	1,32	1,6	12,6	14,2	7,3	2,64	1,9	12,6	14,5	6,7
Malate monopotas.	1,34	1,2	6,4	7,6	12,8	2,68	1,	5,8	6,8	14,4
Tartrate —	1,50	1,7	10	11,7	8,5	3,	1,6	6,1	7,7	12,9
Succinate —	1,18	1,3	7,6	8,9	13,3	2,36	1,9	6,2	8,1	12,2
Citrate —	1,40	1,9	7,4	9,3	12,3	2,80	1,6	6,1	7,7	11,5
Citrate bipotas.	1,40	1,6	4,9	6,5	17,6	2,80	1,5	8,5	10	12,3

TABLEAU XXXVII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes.)	ACIDITÉ RELATIVE (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).	»	4,2	»
Knop + K ² SO ⁴	»	1,3	»
Knop glucosé	1,32	1,4	10,1
Malate monopotassique.	1,34	1,4	14,1
Tartrate —	1,50	1,5	12,5
Succinate —	1,18	1,3	16,8
Citrate —	1,40	1,4	17,1
Citrate bipotassique.	1,40	1,3	19,6

2° Cultures sur sable.

3° Cultures sur ouate.

Les cultures sur sable fournies par le Knop seul et additionné de sulfate de potassium étaient, lors de leur récolte, dans un état de souffrance manifeste : c'est pourquoi je n'ai pas calculé leur degré de turgescence. Malgré cela, leur acidité relative est toujours inférieure à celle des pieds qui se sont développés dans les milieux organiques.

Il en est également de même pour les cultures sur ouate.

TABLEAU XXXVIII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieu: « sels acides » sur sable et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CULTURES SUR SABLE (expériences de 1912).			CULTURES SUR QUATE (expériences de 1913).		
	Concentration en acide p. 1 000. (en gr.)	Acidité relative. (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$	Concentration en acide p. 1 000. (en gr.)	Acidité relative. (gr. frais.)	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	2,5	»	»	1,7	»
Knop + K ² SO ⁴	»	2,7	»	»	1,6	»
Knop glucosé.....	1,32	2,6	4	0,66	1,8	20,6
Malate monopotassique...	1,34	3,7	8,5	0,67	2,3	23,7
Tartrate — ...	1,50	5,4	6,1	0,75	»	»
Succinate — ...	1,18	3,2	11,4	0,59	2,1	21,9
Citrate — ...	1,40	3,8	10,1	0,70	2,4	14,2
Citrate bipotassique.....	1,40	3,5	9,	0,70	2,	24,2

En résumé, les chiffres des tableaux précédents peuvent s'interpréter de la façon suivante :

En atmosphère confinée, les sels acides de potassium fournis au Radis par la voie radiculaire et en cultures pures :

1° Augmentent l'acidité relative;

2° Diminuent les acidités combinée et totale ;

3° L'acidité paraît être plutôt en rapport inverse avec la turgescence ;

4° L'action de ces sels organiques est due à l'acide qu'ils renferment.

Conclusions du deuxième paragraphe. — En atmosphères libre et confinée, les sels acides organiques étudiés, absorbés et assimilés par le Radis, produisent une augmentation de l'acidité relative. Mais les acidités combinées et totales sont augmentées en air libre et diminuées en air confiné, exactement comme cela s'est passé avec les acides libres.

§ III. — INFLUENCE DES « SELS ACIDES » SUR LES ÉCHANGES GAZEUX

A. — ÉCHANGES GAZEUX DANS L'OBSCURITÉ.

Cette étude comprend la détermination du quotient et de

l'intensité respiratoires des pieds de Radis développés en atmosphère libre.

1^o *Cultures sur ponce.* — La durée de la respiration, pour les cultures de 1911, fut de six heures; elle a été prolongée ensuite, dans tous les cas, jusque vingt-quatre heures.

TABLEAU XXXIX.

Quotient et intensité respiratoires des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RES- PIRATOIRE. (c. cube gr. heure.)		CONCENTRATION en acide, p. 1 000. (en grammes.)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RES- PIRATOIRE. (c. cube gr. heure.)	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
Knop (témoin)	»	0,67	0,096	0,143	»	0,67	0,096	0,143
Knop + K ² SO ⁴	»	0,69	0,095	0,137	»	0,68	0,092	0,135
Knop glucosé	1,32	0,88	0,053	0,060	2,64	0,95	0,070	0,073
Malate monopotass.	1,34	0,88	0,059	0,067	2,68	0,63	0,069	0,109
Tartrate — ..	1,50	0,97	0,070	0,072	3	0,88	0,083	0,094
Succinate — ..	1,18	1,27	0,086	0,067	2,36	1,22	0,079	0,065
Citrate — ..	1,40	1,23	0,068	0,055	2,80	1,02	0,058	0,057
Citrate bipotassique ...	1,40	0,76	0,050	0,066	2,80	1,11	0,084	0,076

On peut remarquer que certains quotients respiratoires ont une valeur dépassant l'unité.

TABLEAU XL.

Quotient et intensité respiratoires des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRA- TION en acide p. 1 000. (en grammes)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (en cent. cubes gr. heure.)	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
Knop (témoin)	»	0,86	0,060	0,070
Knop + K ² SO ⁴	»	0,88	0,065	0,074
Knop glucosé	1,32	0,95	0,058	0,061
Malate monopotassique ...	1,34	0,94	0,054	0,057
Tartrate — ...	1,50	1	0,042	0,042
Succinate — ...	1,18	0,94	0,061	0,065
Citrate — ...	1,40	0,93	0,048	0,052
Citrate bipotassique	1,40	0,87	0,042	0,048

2^o *Cultures sur sable.*

TABLEAU XLI.

Quotient et intensité respiratoires des pieds de *Radis* cultivés, en 1912, dans les milieux « sels acides » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1 000. (en grammes.)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (en cent. cubes gr. heure.)	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin)	»	0,76	0,045	0,060
<i>Knop</i> + K ² SO ⁴	»	0,77	0,049	0,064
<i>Knop</i> glucosé	1,32	0,91	0,063	0,070
Malate monopotassique...	1,34	0,80	0,072	0,090
Tartrate — ...	1,50	0,83	0,059	0,071
Succinate — ...	1,18	1	0,080	0,080
Citrate — ...	1,40	0,86	0,061	0,071
Citrate bipotassique	1,40	0,83	0,060	0,072

Les intensités sont ici, comme pour les acides libres, plus fortes que celles des pieds témoins. Ces résultats prouvent bien encore l'influence de l'acidité libre des sels acides.

3° *Cultures sur ouate*. — Je n'ai déterminé, en 1913, que les échanges gazeux des pieds qui se sont développés, sur sable et ouate, dans les milieux malate acide de potassium et témoins. Les doses de ce sel organique ont été réduites à la moitié de celles de l'année précédente, absolument comme pour les acides libres, afin d'éviter toute action trop toxique de sa part. Les nouveaux chiffres trouvés, relatifs aux intensités respiratoires, sont absolument conformes à ceux indiqués pour la ponce. Il en serait évidemment de même pour les autres sels.

De ces expériences, je peux donc dire que les sels acides organiques de potassium :

- 1° Augmentent le quotient respiratoire ;
- 2° Diminuent l'intensité respiratoire ;
- 3° Ces actions sont surtout produites par l'acide organique.

B. — ÉCHANGES GAZEUX A LA LUMIÈRE.

C'est-à-dire la détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec plante et sans plante pendant la durée de la végétation.

1° *Cultures sur ponce*. — Je rappelle que pendant l'année

1911, je n'ai pas exécuté d'expériences avec des tubes sans plante.

TABLEAU XLII.

Échanges gazeux à la lumière des pieds de Radis cultivés en milieu « sels acides » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES DE 1911. (Durée des cultures : 60 jours.)				EXPÉRIENCES DE 1912. (Durée des cultures : 50 jours.)		
	Tubes avec plante.				Concentration en acide p. 1 000. (en gr.)	Tubes	
	Concentration en acide p. 1 000. (en gr.)	Volume d'O dégagé p. 100.	Concentration en acide p. 1 000. (en gr.)	Volume d'O dégagé p. 100.		avec plante. Volume d'O dégagé p. 100.	sans plante. Volume de CO ² dégagé p. 100.
Knop (témoin).....	»	0	»	0	»	0	0
Knop + K ² SO ⁴	»	0	»	0	»	0	0
Knop glucosé.....	1,32	0	2,64	0	1,32	0	0
Malate monopotassique.	1,34	0,5	2,68	0,7	1,34	0,3	0,3
Tartrate —	1,50	0,3	3	0,5	1,50	0,3	0,17
Succinate —	1,18	0,1	2,36	0,17	1,18	0	0
Citrate —	1,40	0,7	2,80	1,2	1,40	0,8	0,54
Citrate bipotassique....	1,40	0,6	2,80	0,5	1,40	0,7	0,49

Les sels acides se sont un peu décomposés, mais moins que les acides libres correspondants.

2° Cultures sur sable.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU XLIII.

Échanges gazeux à la lumière de Radis cultivés sur sable et ouate.

MILIEUX de culture.	CULTURES SUR SABLE.						CULTURES SUR OUATE.		
	EXPÉRIENCES DE 1912. (Durée : 50 jours.)			EXPÉRIENCES DE 1913. (Durée : 45 jours.)			EXPÉRIENCES DE 1913. (Durée : 50 jours.)		
	Concentration en acide p. 1 000. (en grammes.)	Tubes		Concentration en acide p. 1 000. (en grammes.)	Tubes		Concentration en acide p. 1 000. (en grammes.)	Tubes	
		avec plante.	sans plante.		avec plante.	sans plante.		avec plante.	sans plante.
		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)		Volume d'O dégagé p. 100. (en c.c.)	Volume de CO ² dégagé p. 100. (en c.c.)
Knop (témoin).....	»	0	0	»	0	0	»	0	0
Knop + K ² SO ⁴	»	0	0	»	0	0	»	0	0
Knop glucosé.....	1,32	0	0	0,66	0	0	0,66	0	0
Malate monopotas.	1,34	0,15	0,07	0,67	0	0	0,67	0	0
Tartrate —	1,50	»	0	0,75	»	0	0,75	0	0
Succinate —	1,18	0	0	0,59	0	0	0,59	0	0
Citrate —	1,40	0,57	0,43	0,70	0,3	0,2	0,70	0,2	0,2
Citrate bipotas....	1,40	0,42	0,43	0,70	0,2	0,1	0,70	0,2	0,2

L'acide citrique combiné, seul, s'est montré légèrement instable.

En résumé : les sels acides organiques de potassium, qui augmentent très peu l'acidité interne du Radis, ne changent pas la composition de l'air confiné, aux doses utilisées.

Comme pour les acides libres, j'ai calculé les moyennes des résultats obtenus pour chaque milieu expérimenté, concernant les poids frais et secs, les cendres, la turgescence et l'acidité relative.

TABLEAU XLIV.

Moyennes générales des résultats obtenus pour chaque milieu de culture expérimenté.

MILIEUX de culture.	ATMOSPHÈRE LIBRE.					ATMOSPHÈRE CONFINÉE.				
	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.
Knop (témoin)....	749	36,3	9,7	19,7	1	166	11,7	3	18,4	1,5
Knop + K ² SO ⁴	811	41	12	19	1,1	250	16,9	6,9	15,9	1,5
Knop glucosé.....	1035	54,9	14,1	18,5	1,3	306	30,5	12,2	11,4	1,8
Malate monopat. .	1080	54,8	13,5	19,1	1,3	616	40,6	12,3	14,7	1,8
Tartrate	763	48,5	14,8	17,4	1,5	498	29,1	10,7	10,5	1,6
Succinate.....	1129	58,2	16,4	18,7	1,4	493	35	12,4	15,1	1,9
Citrate.....	1086	55,4	14	18,9	1,3	476	32,8	12	13	2,2
Citrate bipotassiq.	1090	52,7	14,7	20,1	1,3	490	29	11,5	20,7	2

CONCLUSIONS DU TROISIÈME CHAPITRE. — Les sels acides organiques de potassium, tels que les malate, tartrate, succinate, citrates mono et bipotassiques, et très probablement les oxalates, fournis au Radis comme aliment carboné, par la voie radiculaire, sont bien absorbés. Ils provoquent chez lui, absolument comme les acides libres, une augmentation très nette du poids frais, du poids sec, des cendres, de l'acidité relative et diminuent légèrement la turgescence. De plus, le quotient respiratoire est accru et l'intensité diminuée. Ces sels acides sont donc bien assimilés par la plante, et toutes ces actions bienfaisantes sont surtout dues à l'acide organique qu'ils renferment. En atmosphère libre, le classement de ces sels selon leur nutritivité décroissante est le suivant : succinate, citrate monopotassique, malate, citrate bipotassique, tartrate.

CHAPITRE IV

**NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES
« SELS ORGANIQUES NEUTRES »**

Le rapprochement des conclusions des deux chapitres précédents permet de constater que les actions, qualitatives tout au moins, sur le Radis, des acides organiques et de leur sels acides sont tout à fait de même ordre. Cette similitude, en raison de leur fonction acide commune, n'a rien qui puisse surprendre ; au contraire même, elle pouvait, à priori, être prévue. Mais, par contre, il est bien difficile de se faire, avant l'expérimentation, une opinion sur l'influence qu'auront les mêmes acides à l'état de combinaisons potassiques neutres. Aussi l'étude de ces sels, venant après celles des acides et des sels acides, est-elle d'autant plus intéressante.

La comparaison des cultures obtenues dans les milieux organiques neutres avec celles du milieu Knop me fixera sur la valeur nutritive des premiers. Mais, pour déterminer ensuite la part qui revient à l'acide seul, j'ai fait des cultures témoins supplémentaires avec du Knop additionné de chlorure de potassium, d'une part et de sulfate de potassium, d'autre part, et dans des proportions telles qu'ils renferment des quantités de potassium rigoureusement égales à celles contenues dans les sels neutres organiques. Ceux-ci ont été préparés par neutralisation complète des acides libres, et c'est en acide libre que j'exprimerai les concentrations des milieux de culture. Tous les tableaux de cette partie de mon travail auront ainsi une conformité qui rendra leur lecture et leur rapprochement plus faciles.

Ce chapitre, dont la division est toujours celle qui a été exposée plus haut, comprend des expériences poursuivies parallèlement à celles des chapitres précédents et correspondant aux mêmes années et substrata. Dans ces conditions, je suis amené à être, ici encore, très bref.

§ I. — INFLUENCE DES « SELS NEUTRES »
SUR LE RENDEMENT ET LA TURGESCE

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

1° *Cultures sur ponce.* — La durée de ces cultures est toujours de soixante jours.

TABEAU XLV.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1914, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	Concentration en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$	Concentration en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$
		Du pied.		Des cendres du pied.			Du pied.		Des cendres du pied.	
		Frais.	Sec.				Frais.	Sec.		
<i>Knop</i> (témoin)....	»	899	42,5	9,7	20,1	»	899	42,5	9,7	20,1
<i>Knop</i> + K^2SO^4	»	967	47,4	12,4	19,5	»	992	54,7	14,2	17
<i>Knop</i> glucosé	1,32	1141	54,6	13,4	19,9	2,64	1334	82,5	14,8	15,2
Malate bipotas....	1,34	909	50	13	17,2	2,68	790	53,4	14,4	13,9
Tartrate —	1,50	1025	50,6	13,6	19,1	3	1110	62,4	16,8	16,8
Succinate —	1,18	773	51	13,7	14,2	2,36	762	45,2	12,2	15,9
Citrate tripotas....	1,40	1110	60,4	14,8	17,5	2,80	1120	58,4	14	18,2

TABEAU XLVI.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRA- TION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	807	38	20,3
<i>Knop</i> + K^2SO^4	»	727	35	20
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	839	43	18,5
Malate bipotassique.....	1,34	1280	62	19,6
Tartrate —	1,50	661	33	19
Succinate —	1,18	1000	48	20
Citrate tripotassique.....	1,40	1325	62	20,4

Le tartrate neutre a fourni, pour les deux séries de cultures de l'année 1911, un rendement très favorable qui est devenu, en 1912, inférieur à celui qu'a produit le milieu Knop. Peut-être

y a-t-il encore là une action favorisante de la chaleur et de la lumière sur l'assimilation de ce sel rendue ainsi plus frappante par sa très grande toxicité : l'été de 1914 fut, comme je l'ai déjà dit bien souvent, tout particulièrement chaud. De même le milieu de Knop additionné de sulfate de potassium a donné un rendement peu favorable; ce fait doit très probablement tenir à la teneur exagérée en potassium de la solution.

2° Cultures sur sable.

TABLEAU XLVII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	607	38	14,9
Knop + K ² SO ⁴	»	657	46	13,3
Knop glucosé.....	1,32	1080	71	14,2
Malate bipotassique.....	1,34	870	57	14,3
Tartrate —.....	1,50	702	48	13,6
Succinate —.....	1,18	750	52	13,4
Citrate tripotassique.....	1,40	1000	72	12,8

Les rendements produits par les milieux tartrate et Knop additionné de sulfate de potassium sont ici supérieurs à celui du Knop témoin.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU XLVIII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « sels neutres » et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	630	27,5	21,9
Knop + K ² SO ⁴	»	623	27	22
Knop glucosé.....	0,66	971	39	23,8
Malate bipotassique.....	0,67	1060	43,5	22,3
Tartrate —.....	0,75	»	»	»
Succinate —.....	0,59	950	42	21,6
Citrate tripotassique.....	0,70	1046	44,5	22,5

Le tartrate a été mortel pour le Radis, ce qui met bien en relief l'influence toxique de l'acide, même à l'état combiné, et aussi l'influence du substratum.

Stabilité des sels neutres de potassium au contact des divers substrata. — Les tubes renfermant les milieux organiques, mais sans plante, au contact du sable et de l'ouate, n'ont subi aucun changement dans leur acidité (qui est celle de la solution de Knop) pendant toute la durée du développement du Radis : ces sels sont donc bien stables. Quant aux tubes avec plante, au moment de la récolte, leur acidité initiale, qui était légère, s'est transformée en une alcalinité assez forte (de 0^m,5 à 0^m,8 de solution décimale), ce qui permet d'admettre que l'acide organique a été absorbé en plus grande quantité que le potassium.

Les sels neutres se sont également bien comportés au contact de la ponce. L'analyse de l'air confiné des tubes sans plante a, en effet, montré que le citrate neutre, seul, a dégagé des traces d'acide carbonique.

Je puis donc résumer ainsi les résultats obtenus : en atmosphère libre, les sels neutres organiques étudiés, fournis au Radis comme aliment carboné, par la voie radiculaire et en cultures pures :

- 1° Sont absorbés par les racines ;
- 2° Augmentent le poids frais, le poids sec, le poids des cendres ;
- 3° Diminuent la turgescence ;
- 4° Peuvent être classés de la façon suivante, d'après leur nutritivité décroissante : citrate, malate, succinate, tartrate ;
- 5° Toutes ces actions bienfaisantes sont dues surtout à l'acide organique.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

1° Cultures sur ponce.

La récolte de l'année 1911 a été faite après soixante jours de végétation et celle de 1912 au bout de cinquante. Comme les résultats obtenus pendant ces deux années étaient absolument concordants, je n'ai pas procédé à de nouvelles cultures en 1913.

Les Radis de l'année 1911, grâce aux circonstances atmosphériques tout particulièrement favorables, se sont très bien développés.

TABLEAU XLIX.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	Concentration en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$	Concentration en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN (en milligrammes.)			$\frac{P-p}{p}$
		Du pied.		Des cendres du pied.			Du pied.		Des cendres du pied.	
		Frais.	Sec.				Frais.	Sec.		
<i>Knop</i> (témoin)....	»	352	20	3	16,6	»	352	20	3	16,6
<i>Knop</i> + K^2SO^4	»	493	31,2	7,2	14,9	»	432	25	8,4	16,3
<i>Knop</i> glucosé	1,32	404	48,5	9	7,3	2,64	578	75,2	13,4	6,7
Malate bipotassiq.	1,34	600	36	8	15,7	2,68	547	38,6	13,4	13
Tartrate —	1,50	517	37	8	13	3	»	»	»	»
Succinate —	1,18	773	40,8	7,7	18	2,36	500	35	13,4	13,3
Citrate tripotassiq.	1,40	453	39,6	8,8	10,3	2,80	517	35,4	9,4	13,6

Le tartrate à 3 p. 1000 a été mortel pour le Radis.

TABLEAU L.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRA- TION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
<i>Knop</i> (témoin).....	»	90	9	»
<i>Knop</i> + K^2SO^4	»	93	11	»
<i>Knop</i> glucosé.....	1,32	200	18	10,1
Malate bipotassique.....	1,34	363	17	20,4
Tartrate —	1,50	538	31	16,3
Succinate —	1,18	465	24,5	17,9
Citrate tripotassique.....	1,40	366	18	19,3

Les pieds qui se sont développés dans les milieux témoins *Knop* seul et additionné de sulfate de potassium étaient, lors de leur récolte, dans un état très précaire, comme l'indiquent d'ailleurs leurs poids secs et frais. On constatera le même fait avec les deux autres substrata, ce qui prouve bien que les sels organiques ont une influence heureuse sur la végétation du Radis, surtout quand l'assimilation chlorophyllienne est gênée dans son fonctionnement normal.

2° *Cultures sur sable.*

TABLEAU LI.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	60	12	»
Knop + K ² SO ⁴	»	63	12	»
Knop glucosé.....	1,32	105	21	4
Malate bipotassique	1,34	310	34	8,1
Tartrate —	1,50	300	23	12
Succinate —	1,18	530	28	17,9
Citrate tripotassique.....	1,40	260	16	15,3

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU LII.

Rendement et turgescence de Radis cultivés, en 1913, dans les milieux « sels neutres » et sur ouate.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1000. (en grammes.)	POIDS MOYEN du pied. (en milligrammes.)		$\frac{P-p}{p}$
		Frais.	Sec.	
Knop (témoin).....	»	225	8	»
Knop + K ² SO ⁴	»	154	6	»
Knop glucosé.....	0,66	226	11	20,6
Malate bipotassique	0,67	290	24	11,1
Tartrate —	0,75	394	15	25,3
Succinate —	0,59	767	29	25,3
Citrate tripotassique.....	0,70	400	25	16

Les pieds témoins pouvaient être considérés comme morts, au moment de leur récolte.

Tous ces nombreux résultats peuvent se résumer ainsi : en atmosphère confinée, les sels neutres de potassium fournis au Radis par la voie radiculaire et en cultures pures :

1° Sont absorbés par les racines ;

2° Augmentent le poids frais, le poids sec, le poids des cendres ;

3° Diminuent la turgescence ;

4° L'influence heureuse de ces sels, sur le rendement, doit être attribuée surtout à l'acide organique.

Conclusions du premier paragraphe. — Les expériences précédentes, poursuivies en atmosphères libre et confinée, me permettent de conclure, chez le Radis, à l'absorption et à l'assimilation des sels neutres organiques de potassium, dont l'action nutritive est due, surtout, à l'acide lui-même.

§ II. — INFLUENCE DES « SELS NEUTRES » SUR L'ACIDITÉ INTERNE

Toujours d'après l'ordre adopté, je m'occuperai d'abord des cultures en air libre, puis des cultures en air confiné.

A. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE.

1° Cultures sur ponce.

TABLEAU LIII.

Acidité interne des pieds de Radis cultivés, en 1911, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1000 (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1000 (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$
		Relative.	Combi- née.	Totale.			Relative.	Combi- née.	Totale.	
Knop (témoin)...	»	0.9	4.1	5	20.1	»	0.9	4.1	5	20.1
Knop+K ² SO ⁴ ...	»	1	4.2	5.2	19.5	»	0.8	4.8	5.6	17
Knop glucosé...	1,32	1.5	5.4	6.9	19.9	2.64	1.6	4.5	6.1	15.2
Malate bipotas...	1.34	0.9	5.7	6.6	17.2	2.68	1.8	5.6	7.4	13.9
Tartrate —	1.50	2.1	6	8.1	19.1	3	2.5	5	7.5	16.8
Succinate —	1.18	1.6	6.2	7.8	14.2	2.36	1.3	6.3	7.6	15.9
Citrate tripotas...	1.40	1.7	5.9	7.6	17.5	2.80	1.9	6.1	8	18.2

Le malate bipotassique, à la dose de 1^{gr},34 p. 1000, n'a pas augmenté l'acidité relative du Radis ; mais à celle de 2^{gr},68, cette acidité est nettement plus forte que l'acidité produite par les différents milieux témoins.

Quant aux autres sels organiques, leur influence, à ce point de vue, est très accentuée, surtout pour le tartrate bipotassique. De plus, les concentrations de leurs milieux de culture, qui cependant varient du simple au double, ne paraissent pas avoir une influence sur les acidités relative et combinée.

TABLEAU LIV.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCEN- TRATION en acide, p. 1 000 (en grammes).	ACIDITÉ relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	0,8	20,3
Knop + K ² SO ⁴	»	0,9	20
Knop glucosé.....	1,32	1	18,5
Malate bipotassique.....	1,34	0,9	19,6
Tartrate —	1,50	1,1	19
Succinate —	1,18	1	20
Citrate tripotassique	1,40	0,9	20,4

Il est assez intéressant de remarquer, et cela s'est passé également pour l'acide et le sel acide de potassium, que le tartrate neutre, qui est manifestement le plus toxique des composés étudiés, augmente le plus l'acidité relative du Radis : il est vrai qu'il diminue beaucoup la turgescence.

2° Cultures sur sable.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU LV.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieu « sels neutres » sur sable et sur ouate.

MILIEUX de culture.	CULTURES SUR SABLE (Expériences de 1912).			CULTURES SUR OUATE (Expériences de 1913).		
	Concen- tration en acide p. 1 000 (en grs.)	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Concen- tration en acide p. 1 000 (en grs.)	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	1,2	14,9	»	1,2	21,9
Knop + K ² SO ⁴	»	1,3	13,3	»	1,1	22
Knop glucosé.....	1,32	1,5	14,2	0,66	1,3	23,8
Malate bipotas.....	1,34	1	14,3	0,67	0,7	22,3
Tartrate —	1,50	1,5	13,6	0,75	»	»
Succinate —	1,18	1,1	13,4	0,59	0,9	21,6
Citrate tripotas.....	1,40	0,8	12,8	0,70	0,5	22,5

En résumé, les résultats consignés dans les tableaux précédents permettent de se rendre compte que : les sels neutres,

absorbés et assimilés par le Radis, produisent, en atmosphère libre, sur l'acidité interne :

1° Tantôt une augmentation, tantôt une diminution de l'acidité relative, selon la nature du substratum ; mais la moyenne générale pour chaque acide (comme l'indique le tableau LXII) se trouve très légèrement augmentée ;

2° Un accroissement des acidités combinée et totale ;

3° L'acidité est plutôt en rapport inverse avec la turgescence.

B. — CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE.

1° Cultures sur ponce.

TABLEAU LVI.

Acidité interne des pieds de Radis cultivés, en 1914, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000 (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$	CONCENTRATION en acide, p. 1 000 (en grammes.)	ACIDITÉS (gr. frais.) En sol. de soude $\frac{N}{50}$			$\frac{P-p}{p}$
		Rela- tive.	Combi- née.	Totale.			Rela- tive.	Combi- née.	Totale.	
Knop (témoin)...	»	1.2	11	12.2	16.6	»	1.2	11	12.2	16.6
Knop + K ² SO ⁴ ...	»	1.2	4.3	5.5	14.9	»	0.8	4.6	5.4	16.3
Knop glucosé...	1.32	1.6	12.6	14.2	7.3	2.64	1.9	12.6	14.5	6.7
Malate bipotas...	1.34	1.1	5.5	6.6	15.7	2.68	2.1	9.5	11.6	13
Tartrate —	1.50	1.6	5.8	7.4	13	3	»	»	»	»
Succinate —	1.18	1.4	5.8	7.2	18	2.36	1.8	11.8	13.6	13.3
Citrate tripotas...	1.40	1.5	7.5	9	10	2.80	1.5	7.9	9.4	13.6

TABLEAU LVII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000 (en grammes).	ACIDITÉ relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	1.2	»
Knop + K ² SO ⁴	»	1.1	»
Knop glucosé.....	1.32	1.4	10.1
Malate bipotassique.....	1.34	1.2	20.4
Tartrate —	1.50	1.3	16.3
Succinate —	1.18	1.2	17.9
Citrate tripotassique.....	1.40	1.1	19.3

2° Cultures sur sable.

3° Cultures sur ouate.

TABLEAU LVIII.

Acidité relative des pieds de Radis cultivés en milieux « sels neutres » sur sable et sur ouate.

MILIEUX de culture.	CULTURES SUR SABLE (Expériences de 1912.)			CULTURES SUR OUATE (Expériences de 1913.)		
	Concen- tration en acide p. 1 000 (en grammes).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$	Concen- tration en acide p. 1 000 (en grammes).	Acidité relative (gr. frais).	$\frac{P-p}{p}$
Knop (témoin).....	»	2,5	»	»	1,7	»
Knop + K ² SO ⁴	»	2,4	»	»	1,6	»
Knop glucosé.....	1,32	2,6	»	2,64	1,8	20,6
Malate bipotas.....	1,34	2,4	8,1	2,68	1,7	11,1
Tartrate —.....	1,50	2,9	12	3	1,2	25,3
Succinate —.....	1,18	2,7	17,9	2,36	1,3	25,3
Citrate tripotas.....	1,40	2,6	15,3	2,80	1,5	16

Les résultats obtenus peuvent se résumer ainsi :

En atmosphère confinée, les sels neutres organiques de potassium, absorbés et assimilés par le Radis, produisent sur l'acidité du suc cellulaire :

1° Plutôt une augmentation de l'acidité relative;

2° Une diminution des acidités combinée et totale;

3° L'acidité relative est également en rapport inverse avec la turgescence.

Conclusions du deuxième paragraphe. — En atmosphères libre et confinée, les sels neutres organiques de potassium étudiés, absorbés et assimilés par le Radis, produisent une légère augmentation de l'acidité relative. Mais les acidités combinées et totales sont augmentées en air libre et diminuées, le plus généralement, en air confiné, exactement comme cela s'est passé pour les acides libres et sels acides.

§ III. — INFLUENCE DES « SELS NEUTRES » SUR LES ÉCHANGES GAZEUX

A. — ÉCHANGES GAZEUX DANS L'OBSCURITÉ.

Cette étude comprend la détermination du quotient et de

l'intensité respiratoire des pieds de Radis développés en atmosphère libre.

1° *Cultures sur ponce.* — La durée de la respiration du Radis, pour les cultures de 1911, fut de six heures; elle a été ensuite prolongée jusqu'à vingt-quatre heures.

TABLEAU LIX.

Quotient et intensité respiratoires des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide, p. 1 000 (en grammes).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ respiratoire (cent. cube gr. heure).		CONCENTRATION en acide, p. 1 000 (en grammes).	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ respiratoire (cent. cube gr. heure).	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
Knop (témoin)....	»	0,67	0,096	0,143	»	0,67	0,096	0,143
Knop + K ² SO ⁴	»	0,69	0,095	0,137	»	0,67	0,096	0,143
Knop glucosé	1,32	0,88	0,053	0,060	2,64	0,95	0,070	0,073
Malate bipotas....	1,34	0,98	0,053	0,054	2,68	0,90	0,087	0,097
Tartrate —	1,50	0,83	0,065	0,078	3	1,26	0,067	0,053
Succinate —	1,18	0,88	0,068	0,077	2,36	0,86	0,106	0,123
Citrate tripotas....	1,40	0,94	0,057	0,061	2,80	1,16	0,103	0,088

TABLEAU LX.

Quotient et intensité respiratoires des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur ponce.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRA- TION en acide p. 1 000. (en grammes.)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (en cent. cubes gr. heure.)	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
Knop (témoin)	»	0,86	0,060	0,070
Knop + K ² SO ⁴	»	0,89	0,065	0,073
Knop glucosé	1,32	0,95	0,058	0,061
Malate bipotassique	1,34	0,87	0,052	0,059
Tartrate —	1,50	0,91	0,040	0,044
Succinate —	1,18	1	0,056	0,056
Citrate tripotassique	1,40	0,87	0,046	0,053

2° *Cultures sur sable.* — Je n'ai pas fait de cultures avec tous les sels neutres, en 1913, mais seulement avec le malate, dont la dose a été réduite de moitié, et le Knop. Dans ces conditions j'ai obtenu des intensités respiratoires plus faibles que celles du milieu témoin, absolument comme avec la ponce.

TABLEAU LXI

Quotient et intensité respiratoires des pieds de Radis cultivés, en 1912, dans les milieux « sels neutres » et sur sable.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide p. 1 000. (en grammes.)	QUOTIENT respiratoire.	INTENSITÉ RESPIRATOIRE (en cent. cubes gr. heure)	
			En CO ² dégagé.	En O absorbé.
<i>Knop</i> (témoin)	»	0,76	0,045	0,060
<i>Knop</i> + K ² SO ⁴	»	0,78	0,051	0,063
<i>Knop</i> glucosé	1,32	0,91	0,063	0,070
Malate bipotassique	1,34	0,82	0,051	0,062
Tartrate —	1,50	0,90	0,062	0,069
Succinate —	1,18	0,96	0,068	0,070
Citrate tripotassique	1,40	0,85	0,054	0,064

Comme pour les acides et sels acides, les intensités respiratoires sont plus fortes, très légèrement néanmoins, que celles des pieds témoins, ce qui démontre toujours l'influence toxique de l'acide malgré sa neutralisation.

3° *Cultures sur ouate.* — Je n'ai déterminé, et à titre de simple expérience de contrôle, que les échanges gazeux de Radis qui se sont développés dans les milieux constitués par le malate neutre et le témoin Knop. Les doses de ce sel ont été réduites à la moitié de celles du substratum sable; j'ai ainsi obtenu des résultats absolument conformes à ceux compris dans les tableaux relatifs à la ponce.

Je puis donc interpréter ainsi les résultats trouvés :

Les sels neutres organiques de potassium, absorbés et assimilés par le Radis, provoquent :

1° Une augmentation du quotient respiratoire ;

2° Une diminution de l'intensité respiratoire ;

3° Ces actions sont surtout produites par l'acide organique.

B. — ÉCHANGES GAZEUX A LA LUMIÈRE.

C'est-à-dire la détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec plante et sans plante, pendant la durée de la culture.

Dans tous les tubes avec plante, et avec tous les substrata, je

n'ai constaté aucun changement de l'atmosphère confinée : peut-être pour l'année 1911 et pour les tubes renfermant le citrate neutre de potassium avec le substratum ponce, ai-je trouvé un très léger dégagement d'acide carbonique.

Dans ces conditions, je puis dire que les sels organiques neutres, qui augmentent, en général, très peu l'acidité relative du Radis, ne changent pas la composition de l'air confiné dans lequel il s'est développé.

Comme pour les acides et sels acides, j'ai calculé les moyennes des résultats obtenus avec chaque sel neutre et milieu témoin, résultats qui sont consignés dans tous les tableaux précédents du chapitre et relatifs aux poids frais et secs, aux cendres, à la turgescence, à l'acidité relative.

TABLEAU LXII

Moyennes générales des résultats obtenus pour chaque milieu de culture expérimenté.

MILIEUX de culture.	ATMOSPHÈRE LIBRE.					ATMOSPHÈRE CONFINÉE.				
	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.
Knop (témoin)....	749	36,3	9,7	19,7	1	166	11,7	3	18,4	1,5
Knop + K ² SO ⁴	793	42	13,3	18,4	1	217	17	7,8	15,6	1,4
Knop glucosé....	1035	54,9	14,1	18,5	1,3	306	30,5	12,2	11,4	1,8
Malate bipotas. ...	982	53,6	13,7	17,5	1,1	422	29,9	10,7	13,7	1,7
Tartrate —	946	53,7	15,2	16,5	1,1	437	26,5	8	16,8	1,8
Succinate —	847	47,6	13	17	1,2	607	31,5	10,6	18,5	1,7
Citrate tripotas....	1120	59,4	14,5	18,3	1,2	399	26,8	9,1	14,9	1,6

Le tartrate a une moyenne plus élevée qu'il ne devrait avoir en réalité car je n'ai pas tenu compte des cas où il a été mortel pour le Radis.

CONCLUSIONS DU QUATRIÈME CHAPITRE. — Les sels organiques neutres de potassium suivants : malate, tartrate, succinate, citrate et très probablement oxalate, fournis au Radis comme aliment carboné, par la voie radiculaire, sont absorbés. Ils provoquent chez lui, absolument comme les acides libres et sels acides, une augmentation très nette des poids frais et sec, des cendres, une augmentation légère de l'acidité relative et diminuent la turgescence. De plus le quotient respiratoire est accru et l'intensité diminuée. Ces sels neutres sont donc bien assi-

milés et toutes ces actions favorables sont dues à l'acide organique qu'ils renferment, qui, se trouvant à l'état libre dans le suc cellulaire agit pour son propre compte.

CHAPITRE V

§ I. — MORPHOLOGIE DES RADIS DÉVELOPPÉS DANS LES DIVERS MILIEUX ORGANIQUES

Au point de vue morphologique, les différences constatées entre les Radis provenant des milieux organiques et ceux des milieux témoins ne sont pas, du moins en air libre, aussi grandes qu'on pourrait le croire à priori. Néanmoins il est utile de les signaler succinctement.

Considérons d'abord les cultures en atmosphère libre. Les plantules repiquées sur ponce se développent beaucoup plus vite que celles qui sont cultivées sur les autres substrata, et on ne remarque entre elles aucun caractère distinct bien net. Mais, par rapport aux plantules témoins, les premières prennent de suite une avance très marquée, qu'elles gardent jusqu'à la récolte : les axes hypocotylés sont plus gros et plus rouges, les feuilles plus grandes, plus vertes et souvent même plus nombreuses.

Dans les autres substrata, le sable et l'ouate, les plantules des milieux acides, comparées à celles des milieux témoins et même des milieux de sels organiques, subissent durant les dix premiers jours, environ, un ralentissement dans leur croissance. Celle-ci reprend ensuite activement, mais les pieds restent néanmoins toujours un peu plus petits ; par contre, les axes hypocotylés sont plus trapus, plus rouges, les feuilles sont plus vertes, plus épaisses et, en outre, elles ont une tendance à rester entières.

Ce retard dans la croissance a été tout particulièrement remarquable en 1913, lors d'un repiquage de plants par une température assez basse qui a occasionné, dans tous les milieux témoins et sels organiques, un étiolement manifeste des plantules, tandis que dans les milieux acides, celles-ci sont restées normales.

En atmosphère confinée, l'aspect général de la végétation est, comme on peut le prévoir, bien moins beau qu'en atmosphère libre. Les milieux témoins ont produit des Radis dont les caractères morphologiques sont à peu près analogues à ceux qui ont été si bien décrits par Molliard, dans son travail « sur l'action morphogénique de quelques substances organiques », mais moins accentués.

Dans les milieux organiques, les Radis ont des axes hypocotylés moins grêles et plus rouges ; des feuilles dont le pétiole, assez long, gros, ligneux, présente une gouttière longitudinale accentuée ; le limbe épais, étroit, a une tendance à se diviser en lobes, sa face supérieure est garnie de poils nombreux et ses bords de petites dents. Ces poils et ces dents sont d'autant plus apparents que leur extrémité est légèrement rosée. Le milieu confiné provoque certainement une surproduction d'anthocyane. En résumé, la belle apparence relative des pieds cultivés en atmosphère confinée et dans les milieux organiques, comparée à celle si souffreteuse des pieds témoins, témoigne manifestement, au simple regard, toute l'action favorable que retire le Radis de l'absorption et de l'assimilation de ces composés ternaires.

J'ai remarqué, de plus, que les milieux renfermant de l'acide succinique libre ou combiné, fournissaient des Radis dont les feuilles étaient légèrement panachées.

Quant à l'influence des acides sur les modifications anatomiques du Radis, elle a été si bien étudiée par Molliard, toujours dans le travail cité plus haut, que je n'ai pas cru devoir m'en occuper à nouveau. De même pour la plantule, Mlle Promsy, dans sa thèse, nous a également bien renseignés à ce sujet.

§ II. — ACTION NUTRITIVE COMPARÉE, SUR LE RADIS, DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES, DE LEURS SELS ACIDES ET NEUTRES DE POTASSIUM.

Les trois chapitres précédents se terminent par un tableau donnant la moyenne arithmétique de tous les résultats obtenus avec les cultures faites sur les divers substrata, en air libre d'une part et en air confiné d'autre part, en présence de chaque espèce d'acide ou de sel organique, ainsi que de milieu témoin.

Ces résultats se rapportent soit au rendement, soit à la turgescence, soit à l'acidité relative. Ils constituent ainsi, pour chacun des phénomènes étudiés, des données aussi exactes que possible pour comparer, entre eux ou avec les différents milieux témoins, les actions produites individuellement par les acides, les sels acides et les sels neutres.

Ces renseignements sont, en outre, indispensables pour établir une autre comparaison très utile entre les actions dues à l'ensemble des acides libres, à l'ensemble des sels acides et à l'ensemble des sels neutres. En effet, comme l'influence sur le rendement, la turgescence et l'acidité relative, des acides entre eux, des sels acides entre eux et des sels neutres entre eux, s'exerce toujours dans le même sens, j'ai pensé que la moyenne arithmétique des chiffres trouvés pour chacun de ces phénomènes et consignés dans les tableaux dont je viens de parler, exprimerait l'action générale de chaque groupe des composés organiques sur le Radis.

J'ai réuni toutes ces données en un tableau, dans lequel j'ai ajouté celles qui sont relatives aux différents milieux témoins. Ce tableau constitue ainsi la synthèse des résultats fournis séparément par les acides libres, les sels acides, les sels neutres et les divers milieux témoins.

TABLEAU LXIII

Moyennes générales des rendements, de la turgescence, des acidités relatives de Radis, obtenus pour chacun des groupes de corps organiques et de milieux témoins.

GROUPES de milieux de culture.	ATMOSPHÈRE LIBRE.					ATMOSPHÈRE CONFINÉE.				
	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.	Poids frais.	Poids sec.	Cendres.	$\frac{P-p}{p}$	Acidité relative.
<i>Knop</i> (témoin).	749	36,3	9,7	19,7	1	166	11,7	3	18,4	1,5
<i>Knop</i> + K^2SO^4 (sels acides) ..	811	41	12	19	1,1	250	16,9	6,9	15,9	1,5
<i>Knop</i> + K^2SO^4 (sels neutres) ..	793	42	13,3	18,4	1	247	17	7,8	15,6	1,4
<i>Knop</i> glucosé ..	1035	54,9	14,1	18,5	1,3	306	30,5	12,2	11,4	1,8
Acides libres ..	945	52,5	13,7	17,1	1,5	426	30,5	10,9	13,5	2,2
Sels acides de potassium ...	1030	53,9	14,7	18,8	1,4	515	33,3	11,8	15	1,9
Sels neutres de potassium ...	974	53,6	14,6	17,3	1,2	466	28,7	9,6	16	1,7

La simple lecture de ce tableau, extrêmement intéressant, permet de se rendre compte que, en atmosphères libre et confinée :

1° Les rendements fournis par les milieux organiques sont supérieurs à ceux des milieux témoins (Knop seul et additionné de sulfate de potassium), ce que l'on savait déjà, mais ici on peut en apprécier les différences.

2° Les milieux glucosés, pour la même quantité de carbone, minime il est vrai, ne sont guère plus favorables au Radis que les milieux des acides organiques libres et combinés.

3° De plus, on voit nettement la diminution de la turgescence et l'augmentation de l'acidité relative produites par tous ces corps ternaires.

Si nous comparons maintenant les résultats obtenus avec les acides libres, les sels acides et neutres, je puis les résumer ainsi :

En atmosphère libre, le rendement et la turgescence relatifs aux sels neutres sont un peu inférieurs à ceux des sels acides et un peu supérieurs à ceux des acides libres. Les acides libres, par contre, déterminent une acidité relative plus forte que celle des sels acides, et ceux-ci une acidité plus élevée que celle des sels neutres.

En atmosphère confinée, les chiffres trouvés sont moins réguliers ; aussi, pour les exposer avec clarté, suis-je obligé de classer ces divers groupes de milieux organiques selon leur action décroissante vis-à-vis :

Du poids frais.	Du poids sec.	De la turgescence.	De l'acidité relative.
Sels acides.	Sels acides.	Sels neutres.	Acides libres.
Sels neutres.	Acides libres.	Sels acides.	Sels acides.
Acides libres.	Sels neutres.	Acides libres.	Sels neutres.

Conclusions générales de la première partie.

Des nombreuses expériences relatées dans cette première partie de mon travail, et concernant les Phanérogames, je puis conclure très affirmativement à l'absorption par la voie racinaire et à l'assimilation par la Plante des acides suivants ainsi que de leurs combinaisons potassiques : acides succinique, citrique, malique, tartrique et très probablement oxalique.

Les actions, au point de vue nutritif, sur le Radis, de ces

acides, de leurs sels acides et neutres de potassium, sont approximativement les mêmes en air libre; néanmoins, les sels acides sont un peu plus alibiles que les sels neutres, et ceux-ci un peu plus que les acides libres. En air confiné, les sels acides occupent toujours le premier rang, puis viennent les acides libres et les sels neutres.

L'influence favorable des sels acides et neutres doit être surtout attribuée à l'acide organique qu'ils renferment.

Les plantes qui se développent à l'état naturel, dans le sol, ne rencontrent pas habituellement dans celui-ci les corps organiques que je viens d'étudier. Mais des acides organiques, ou leurs combinaisons, existent chez toutes les Phanérogames, pour ainsi dire, dans leur suc cellulaire. Dès lors, puisque ces corps ternaires introduits dans la plante y jouent un rôle manifestement nutritif, comme je viens de le prouver, il n'y a aucune raison de ne pas admettre que ceux qui s'y forment normalement aient également le même but.

De nombreuses interprétations sur la fonction des acides dans les végétaux ont été émises, dont quelques-unes sont certainement exactes. Par exemple, Charabot a nettement prouvé que dans certaines plantes aromatiques, les acides se combinent aux alcools pour former des éthers. Dans ce cas spécial, comme dans tout autre d'ailleurs bien démontré, rien n'empêche de reconnaître à ces acides un double rôle : l'un, particulier à divers végétaux (ce serait ici une éthérification), et l'autre, plus général, de nutrition. Très probablement même, les corps qui se forment ainsi, dans ces cas particuliers, ne sont que des états plus résistants que les acides, mais néanmoins transitoires, que prend le carbone avant d'être assimilé. De sorte que, en dernière analyse, c'est toujours pour aboutir à la nutrition. En d'autres termes, les acides organiques, libres et surtout demi-combinés, constitueraient les aliments respiratoires habituels, courants, comme le prétendent Maquenne et d'autres auteurs, et les combinaisons dont je viens de parler, ou analogues, des aliments de réserve pour le même but.

Quoi qu'il en soit, il découle encore de mes expériences que la cellule végétale possède dans ces acides organiques libres, des corps d'une très grande fragilité, qu'elle doit, surtout avec

les moyens puissants dont elle dispose, décomposer, disloquer avec une extrême facilité, afin d'en retirer le carbone nécessaire pour remplir une ou plusieurs de ses fonctions physiologiques. Par quels processus? Il est bien difficile d'être précis. Cependant, en présence de corps aussi instables, si sensibles à l'action de l'oxygène de l'air, la théorie bio-chimique de Maquenne ne paraît pas du tout invraisemblable; point n'est besoin de faire appel, en cette occurrence, aux agents si énergiques que sont les diastases ou oxydases, pour expliquer leur décomposition.

L'acide oxalique, qui est l'acide le plus fragile et aussi le plus répandu, peut-être, chez les Phanérogames, est certainement, au point de vue qui me préoccupe, pour la plante qui en renferme, l'aliment acide carboné idéal. Et sa combinaison avec le calcium, plus résistante, doit être, selon moi, une réserve nutritive que le végétal n'utilisera qu'en cas d'ultime nécessité, ce qui, comme je l'ai déjà dit, ne se présente que bien rarement dans la nature. C'est ce qui fait que les cristaux d'oxalate de calcium, inclus dans la cellule végétale, paraissent n'avoir aucune utilité et sont considérés par la très grande majorité des phyto-physiologistes comme un produit d'excrétion. Évidemment je me trouve ici dans le domaine de l'hypothèse, mais je me propose ultérieurement de la vérifier.

En résumé, les résultats de mes recherches permettent, en outre, d'admettre, sans préjudice des autres rôles nettement prouvés, que les acides organiques et leurs combinaisons existant chez les Phanérogames, y jouent, en dernière analyse, un rôle nutritif.

DEUXIÈME PARTIE

NUTRITION CARBONÉE DES ALGUES A L'AIDE DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS

HISTORIQUE ET PLAN

Un très grand nombre de travaux, épars dans de multiples publications, ont paru, tant en France qu'à l'Étranger, sur la nutrition organique des Algues ; aussi, leur recherche complète et leur lecture seraient-elles excessivement laborieuses et hors de proportion avec le but limité que je me suis imposé. Très heureusement, un savant de l'Institut Pasteur du Brabant, Kufferath, a bien voulu, tout récemment, assumer cette tâche ardue « de grouper toutes les données éparpillées dans de nombreux ouvrages, sur l'utilisation des corps organiques par les Algues ». Et, dans son étude, que j'analyserai plus loin, sur une Protococcacée nouvelle, *Chlorella luteo-viridis* (Chodat), cet auteur donne, en effet, sur cette nutrition, une très riche bibliographie. C'est le seul travail de ce genre que nous possédions en langue française, aussi nos physiologistes et algologues doivent-ils être reconnaissants à Kufferath du réel service qu'il leur rend, en leur offrant ainsi une mise au point de cette vaste question.

C'est assez dire combien souvent j'aurai recours à cette si parfaite monographie pour établir mon historique.

Les travaux sur la nutrition organique des Algues sont tellement fragmentaires, comme l'a écrit Kufferath, que je me limiterai à citer simplement les recherches surtout relatives aux acides que j'étudie, renvoyant, pour les autres corps, à l'ouvrage de cet auteur.

Bokorny et Lœw, en 1887, ont fait une étude chimico-physique des Algues, dans laquelle ils concluent à l'assimilation par *Spirogyra* du succinate de chaux qui provoque la formation d'amidon.

Migula, 1888, démontre l'action néfaste des acides libres en

général, organiques et minéraux, sur le développement des Algues. En particulier, l'acide acétique serait, parmi les acides organiques, le plus fort et l'acide oxalique, à la dose de 4 à 8 milligrammes p. 100, est déjà toxique pour *Spirogyra*, qui est d'ailleurs tué par 2 centigrammes p. 100 d'acide citrique. L'acide tartrique est moins actif.

Bokorny, 1895, dans un travail très complet et intitulé « Sur la nutrition organique des plantes vertes et leur rôle dans la Nature », passe d'abord en revue les résultats obtenus, dans cet ordre d'idée, avec les Algues. Ensuite, dans un autre chapitre, il étudie la valeur nutritive de nombreuses substances organiques, dont la plupart sont des composés azotés, des alcools et des hydrates de carbone. Cependant divers acides, comme les acides acétique, succinique, butyrique, tartrique, oxalique, citrique, aspartique, etc., ont été également expérimentés. Bokorny opérait sur différentes Algues : *Cladophora*, *Vaucheria*, *Spirogyra*, *Zygnema* et *Diatomées*, qu'il cultivait dans des conditions non aseptiques, mais peu prolongées : de quatre heures à douze jours, en général. Les acides, utilisés à la dose de 0gr,10 p. 100, le plus souvent, étaient, au préalable, neutralisés par du calcium, du potassium ou du sodium. De ses nombreuses expériences, l'auteur conclut au pouvoir nutritif des acides acétique, succinique et aspartique, à la lumière, et de l'acide aspartique seul, à l'obscurité. L'acide oxalique était encore toxique à la dose de 0mgr,1 p. 100 ; l'oxalate neutre de potassium, à 0gr,10 p. 100, provoquait la mort des Algues au bout de dix jours.

Zumstein, 1900, par contre, signale que l'acide oxalique est bien supporté par *Euglena gracilis*, à la dose de 0gr,25 à 0gr,50 p. 100 et que les acides malique et citrique sont de bons aliments.

Artari, 1902, a constaté que le *Stichococcus bacillaris* verdit bien à l'obscurité en présence de 0gr,50 p. 100 de tartrate d'ammonium.

Matruchot et Molliard, la même année, ont trouvé que l'acide citrique, au-dessous de 0gr,03 p. 100, était un aliment pour le *Stichococcus bacillaris*.

Treboux, 1905, a obtenu une excellente utilisation de l'acé-

tate de potassium à la dose de 0^{gr},05 p. 100, chez une vingtaine d'Algues, en particulier pour *Chlorella vulgaris*. Mais *Euglena viridis* ne pousse pas en présence des citrates, tandis que *Scenedesmus acutus* et *Calastrum microsporum* assimilent très bien les lactates de potassium et d'ammonium.

Richter, 1909, trouve que le tartrate d'ammonium empêche le développement de *Nitzschia putrida*.

Jacobsen, 1910, a obtenu un bon développement, en culture pure, de *Chlorogonium euchlorum* dans un liquide minéral additionné d'acétate de calcium, mais à l'obscurité la végétation est maigre.

Meinhold, 1911, a étudié sur les Diatomées le malate de sodium, qui ne permet qu'un développement lent et les tartrate de sodium, citrate de sodium, qui provoquent d'abord une végétation extraordinaire suivie d'une mort rapide.

Pfeffer considère l'acide malique comme un poison et l'oxalate de calcium comme peu ou pas assimilable.

J'arrive maintenant au travail de Kufferath, qui date de 1913 et qui certainement est le plus documenté de tous ceux qui traitent de la nutrition des Algues. Il a pour titre : « Contribution à la physiologie d'une Protococcacée nouvelle, *Chorella luteo-viridis* (Chodat) » et comprend l'étude de la valeur nutritive de 130 corps appartenant à toutes les fonctions chimiques organiques, parmi lesquels sont compris beaucoup d'acides gras et aromatiques.

Ce savant apprécie l'intensité de ses cultures d'après une échelle d'évaluation et non par pesées. Les composés organiques sont expérimentés à la dose de 1^{gr} p. 100, le plus généralement, et dans divers milieux : gélose minéralisée, liquide calcique utilisé à l'Institut botanique Léo Errera. Des cultures à la lumière et à l'obscurité ont été faites. Voici les conclusions de ce travail, relatives aux acides organiques que j'ai moi-même surtout étudiés : aucun développement n'a été constaté avec les acides organiques suivants, tant en culture sur gélose qu'en liquide calcique, à la lumière et à l'obscurité, acides acétique, oxalique, malique ; l'acide succinique a fourni une faible culture à la lumière et insignifiante à l'obscurité. L'acidité, dit Kufferath, est un facteur défavorable au développement.

Les oxalates de sodium et de potassium sont assimilés faiblement à l'obscurité, et bien à la lumière. Les malates de sodium et de calcium ne donnent qu'une culture faible à l'obscurité, mais à la lumière l'assimilation est bonne. Les tartrates de sodium, de potassium et de calcium, à la lumière, peuvent être considérés comme de bons aliments. L'assimilation est moindre à l'obscurité, surtout pour le tartrate de calcium. Les citrates sont moins favorables que les tartrates : ceux de calcium et de potassium sont assimilables à la lumière et faiblement à l'obscurité.

L'auteur a constaté que la plupart des corps qui sont plus ou moins assimilés à la lumière ne permettent, à l'obscurité, qu'une croissance très faible, souvent même on ne constate pas de croissance.

Cette deuxième partie de mon travail comprendra trois chapitres. Le premier sera réservé à la description de la technique appliquée dans ces recherches. Dans le deuxième j'indiquerai les rendements obtenus avec les cultures de *Chlorella* faites en atmosphère libre, en présence des acides organiques libres et combinés, ainsi que les échanges gazeux dans l'obscurité. Le troisième concernera les rendements des cultures développées dans les mêmes milieux, mais en air confiné.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

1^o *Choix de l'Algue*. — Ces recherches devant se poursuivre dans des conditions rigoureusement aseptiques et avec un végétal bien déterminé, en un mot en cultures pures, je me suis adressé, comme sujet d'expérience, à une Algue unicellulaire : *Chlorella vulgaris* (Beyerink).

J'ai effectué aussi quelques essais avec le *Cystococcus humicola* (Nægeli), dont une culture pure sur milieu solide m'a été aimablement cédée par Charpentier, qui a fait sur cette Algue une étude physiologique si remarquable. Cette culture, abandonnée dans une armoire de laboratoire, à l'obscurité, depuis

neuf ans, m'a néanmoins fourni de belles cultures par réensemencement de quelques cellules prélevées en des plages restées vertes. Mais comme ce *Cystococcus* m'a paru donner de moins bons rendements avec les acides organiques que le *Chlorella*, j'ai préféré ce dernier. Aussi, si je le mentionne, c'est uniquement pour signaler ce fait, assez inattendu, d'avoir eu l'occasion de constater une survie d'aussi longue durée, avec persistance de chlorophylle, chez une culture d'Algue conservée à l'abri de la lumière.

2° *Composition des milieux de culture.* — Après de nombreuses expériences avec les divers milieux connus et conseillés pour la culture des Algues, j'ai choisi la solution de Molisch légèrement modifiée, dont voici la formule :

Azotate de potassium.....	0 ^{gr} ,30
Phosphate acide de potassium.....	0 ^{gr} ,10
Chlorure de potassium.....	0 ^{gr} ,05
Sulfate de magnésium.....	0 ^{gr} ,20
Solution au 1/200 ^e de sulfate ferreux.....	1 goutte.
Eau redistillée.....	1 litre.

Cette liqueur, additionnée des acides organiques libres et de leurs combinaisons potassiques, constituait les milieux de culture à expérimenter. Seule, ou renfermant du glucose d'une part, du chlorure ou du sulfate de potassium d'autre part, elle formait les milieux témoins, dont les rendements servaient de termes de comparaison.

Comme pour les Phanérogames, toutes les solutions de culture d'une même série renfermaient poids égaux de carbone (1) et possédaient la même acidité. Toujours pour se rendre compte de l'influence de l'apport potassique des combinaisons organiques, les milieux témoins préparés avec les sels minéraux, chlorure et sulfate de potassium, contenaient même quantité de potassium que les milieux préparés avec les sels organiques.

3° *Détermination de la toxicité des acides organiques libres et combinés.* — Avant tout, il était nécessaire de déterminer les doses toxiques des composés organiques, en milieu Molisch, pour le *Chlorella*, afin de se placer dans des conditions favora-

(1) Sauf pour l'acide oxalique.

bles pour son développement. Ces essais préliminaires, effectués en 1911, m'ont appris que, pour les acides libres, je ne devais pas dépasser les quantités correspondant au 1/2000^e de leur poids moléculaire par litre; pour les sels acides, le 1/100^e et pour les sels neutres (sauf l'oxalate), le 1/20^e et même au delà. Déjà, par ces résultats, on peut se convaincre que la toxicité des acides est bien due à leur fonction acidé.

Les acides malique et tartrique sont nettement plus nocifs que les autres, les succinates et citrates acides de potassium beaucoup moins que les tartrate, malate et oxalate. Ce dernier, à l'état neutre, est manifestement défavorable à la dose de 1gr,26 p. 1000 (1/100^e du poids moléculaire).

4^o *Concentration et préparation des milieux organiques.* — La grande sensibilité de l'Algue à l'action des acides libres m'a imposé l'obligation de les employer à des doses bien inférieures (10 fois moins) à celles de leurs combinaisons acides et neutres. Voici d'ailleurs, exposées en un tableau, toutes les concentrations adoptées dans les deux séries d'expériences et exprimées en milligrammes par litre :

	A l'état libre.		A l'état combiné.	
	1 ^{re} série.	2 ^e série.	1 ^{re} série.	2 ^e série.
Acide malique.....	67	34	670	340
— tartrique.....	75	38	750	380
— succinique.....	59	30	590	300
— oxalique.....	63	32	630	320
— citrique.....	70	35	700	350

Les milieux de culture sont préparés en ajoutant à 100 centimètres cubes de solution de Molisch, le dixième de ces poids d'acides ou de leurs combinaisons. Tous, contenus dans des boîtes de Roux de un litre, y compris les milieux témoins, sont stérilisés à l'autoclave, puis, après refroidissement, ensemencés d'Algues. Afin de répartir dans ces vases des quantités de cellules aussi égales que possible, j'ai ajouté à chacun d'eux un centimètre cube d'une culture pure (1) de *Chlorella* dans du Molisch, en ayant bien soin de l'agiter avant chaque prise. On

(1) Une série de milieux ensemencés à l'aide d'une culture contaminée par le *Penicillium glaucum*, a donné des cultures mixtes d'Algue et de Champignon, dont l'association paraissait surtout profiter à la première, dont les cellules se trouvaient prises entre le mycélium enchevêtré. Il y aurait peut-être là un moyen pratique pour tenter la synthèse de lichens nouveaux.

place ensuite toutes les boîtes, à plat, dans le laboratoire, à une même exposition au nord et contre une fenêtre dont les vitres sont garnies de papier blanc, afin d'atténuer l'intensité lumineuse. J'ai constaté, en effet, que la lumière diffuse telle quelle, provoquait, l'été, le jaunissement des Algues qui ne sont protégées contre elle que par une couche d'eau de quelques millimètres d'épaisseur. Cette remarque concorde entièrement avec celles de Grintzesco et surtout de Raoul Combes qui a prouvé, par des mesures photométriques précises, que l'éclairement optimum, pour le *Chlorella*, est représenté par l'éclairement le plus faible utilisé dans ses expériences.

Récolte de l'Algue. Poids sec. — Un jour ou deux avant de procéder à la récolte, on relève et on incline les boîtes de Roux, en les laissant reposer sur un de leurs angles inférieurs : les Algues se réunissent alors au fond de cet angle. Puis, avec un siphon de très faible débit, on décante le plus possible de liquide clair. Le reste est agité pour mettre en suspension les cellules végétales déposées, et on verse le tout dans un tube à centrifugation.

On rince la boîte plusieurs fois avec de l'eau distillée et on transvase tous ces liquides dans le tube précédent, que l'on soumet à l'action de la centrifugeuse électrique. Après une centrifugation de deux minutes de durée, faite avec une vitesse de 3 000 tours à la minute, les Algues se trouvent agglomérées en une masse compacte, surmontée d'un liquide limpide. On décante celui-ci, et on le remplace par une solution d'acide chlorhydrique au millième, qui a pour but de dissoudre le précipité de phosphate de magnésie produit par l'alcalinité de certains milieux de culture : une cause d'erreur très importante, par rapport au poids minime d'Algue, est ainsi évitée. Après une nouvelle centrifugation on décante la solution acide et on lave ensuite les cellules vertes avec de l'eau distillée, à plusieurs reprises ; chaque lavage est évidemment suivi d'une centrifugation. Le culot d'Algue ainsi obtenu est entraîné, au besoin à l'aide d'un peu d'eau, dans un vase bouché à l'éméri, puis desséché pendant quarante-huit heures dans une étuve à 105° et enfin pesé. Je n'ai pas tenu compte, dans ce poids sec, du poids des cellules introduites dans chacune des boîtes de Roux,

au début des expériences, pour effectuer l'ensemencement : il est négligeable, d'ailleurs il est bien approximativement le même pour tous les milieux.

6° *Dosage des acidités initiale et finale des milieux de culture.* — Ces acidités ont été dosées tout simplement au moyen de la solution décimale de soude, en présence de phthaléine du phénol et sont exprimées en centimètres cubes de cette solution p. 100. Avant de déterminer les acidités finales, j'ai pris la précaution de soumettre pendant quelques minutes les milieux au bain-marie, afin d'en chasser l'acide carbonique.

7° *Détermination du quotient respiratoire de l'Algue.* — Il m'a paru d'autant plus intéressant de déterminer le quotient respiratoire d'une Algue, que l'on ne possède, sur ce sujet, aucun renseignement, du moins à ma connaissance. Après de très nombreux tâtonnements, j'ai adopté la technique suivante qui m'a donné de bons résultats. La culture, bien agitée, est filtrée sur papier spécial pour filtration à la trompe, qui retient parfaitement, surtout lorsqu'il est humecté au préalable, les cellules végétales.

Dès qu'une couche mince et uniforme d'Algues garnit le fond du filtre, qui prend alors une légère teinte vert-clair, on découpe à cet endroit un petit carré de deux centimètres de côté que l'on introduit dans un espace d'air confiné de deux centimètres cubes (1). La respiration s'effectue ainsi durant vingt-quatre heures et on procède ensuite au dosage de l'oxygène et de l'acide carbonique, au moyen de l'appareil Bonnier et Mangin.

Pour obtenir des quotients constants pour une même culture, il est important de ne pas exagérer l'épaisseur de la couche d'Algues, qui doivent toujours être légèrement humectées par le peu de liquide que retient le papier filtre. Après quelques essais, on arrive facilement à surmonter cette petite difficulté. La respiration s'effectue ici en présence du milieu même de culture.

(1) Cet espace d'air est ménagé dans un tube de diamètre suffisamment petit pour que le papier, support d'Algues, adhère contre ses parois, sans toucher le mercure.

CHAPITRE II

CULTURES EN ATMOSPHÈRE LIBRE

Ce chapitre se divisera en quatre paragraphes : les trois premiers seront consacrés à l'exposé des résultats trouvés respectivement avec les cultures renfermant les acides libres, les sels acides et les sels neutres de potassium. Le quatrième comprendra la détermination des quotients respiratoires de l'Algue cultivée dans les divers milieux.

J'ai voulu me rendre compte de quelle façon les acides et leurs sels se comportent pendant la longue durée des expériences. A cet effet, j'ai effectué des milieux témoins « de culture à blanc », absolument semblables aux autres mais stériles et exposés dans les mêmes conditions. Au moment de la récolte, leur acidité dite « finale » a été dosée ; elle est indiquée dans une colonne spéciale des tableaux qui suivent, relatifs aux rendements en poids sec, à côté des acidités initiales, qui sont communes à tous les milieux et des acidités finales des liquides ensemencés.

En 1912 une seule récolte a été faite au bout de 120 jours de culture, mais en 1913, j'ai pensé qu'il y aurait peut-être intérêt à en obtenir deux : l'une, par exemple, après 70 jours de développement, et l'autre après 130 jours.

§ I. — RENDEMENT DES CULTURES DE *CHLORELLA*
EN PRÉSENCE DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES

Trois ou quatre jours après l'ensemencement de *Chlorella*, on voyait nettement apparaître sur le fond du vase, mais seulement dans les milieux Molisch et glucosé, un liséré vert, indice du départ de la culture. Celle-ci peu à peu gagnait le milieu de la boîte de Roux et formait, au bout de quatre mois, une couche assez uniforme d'Algues sur toute sa face inférieure.

Dans les milieux acides j'ai constaté un retard manifeste dans le départ de la végétation.

TABLEAU I.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1912, dans les milieux « acides »
(durée : 120 jours).

MILIEUX de culture.	CONCEN- TRATION p. 100 (milligr.).	POIDS sec (milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (en cent. cubes sol. soude $\frac{N}{40}$).		
			Avec plante.		Sans plante.
			Acidité initiale.	Acidité finale.	Acidité finale.
<i>Molisch</i> (témoin).....	»	33,5	0,6	0,2	0,6
<i>Molisch</i> glucosé.....	6,6	38	0,6	0,2	0,6
Acide malique.....	6,7	»	1,6	»	1,55
— tartrique.....	7,5	»	1,6	»	1,6
— succinique.....	5,9	19	1,6	0,6	1,6
— oxalique.....	6,3	47,5	1,6	0,2	0,9
— citrique.....	7	»	1,6	»	1,2

Les acides succinique et oxalique, seuls, ont permis le développement du *Chlorella*; pourtant, dans les essais préliminaires de toxicité, les autres acides, aux mêmes doses, ont fourni d'assez belles cultures. Quoi qu'il en soit, il ressort nettement que ces concentrations sont trop fortes; c'est pourquoi je les ai diminuées de moitié l'année suivante.

L'acide oxalique a donné un rendement supérieur à celui du milieu témoin et même à celui du milieu glucosé. Mais, comme l'indique l'acidité finale des solutions stériles, cet acide s'est décomposé en acide carbonique qui a certainement contribué à augmenter le poids sec. Dans quelle proportion? il est impossible de la connaître pour ces cultures en air libre où l'assimilation chlorophyllienne intervient directement.

Le *Chlorella* est, comme je l'ai dit dans le premier chapitre, très sensible à l'action de l'intensité lumineuse qui doit être très modérée. Par contre, il résiste bien à une température assez élevée : des cultures abandonnées, en 1911, dans une serre où le thermomètre a atteint 40°, durant plusieurs semaines, se sont parfaitement développées, comme l'attestait leur belle couleur verte. Quant aux cultures qui ont servi dans les recherches de ce travail, elles étaient placées, au point de vue thermique, dans d'excellentes conditions expérimentales : la température de l'air ambiant était de 22-25°.

TABLEAU II.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1913, dans les milieux « acides ».

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION p. 100 (en milligr.).	POIDS SEC (en milligr.).	DURÉE : 70 JOURS.			POIDS SEC (en milligr.).	DURÉE : 130 JOURS.				
			ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).		POIDS SEC (en milligr.).		ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).		POIDS SEC (en milligr.).		
			Avec plante.				Sans plante.	Avec plante.		Sans plante.	
			Acidité initiale.	Acidité finale.			Acidité finale.	Acidité initiale.		Acidité finale.	Acidité finale.
Molisch (témoin).	»	18	0,7	alcalin	0,7	35	0,7	alcalin	0,7		
Molisch glucosé.	3,3	29	0,7	alcalin	0,7	43	0,7	alcalin	0,7		
Acide malique...	3,4	»	1,2	»	1,1	»	1,2	»	1		
— tartrique..	3,8	»	1,2	»	1,2	»	1,2	»	1,2		
— succinique.	3	17	1,2	0,2	1,2	20	1,2	alcalin	1,2		
— oxalique ..	3,2	17	1,2	alcalin	0,9	50	1,2	—	0,7		
— citrique...	3,5	8	1,2	0,4	0,8	31	1,2	—	0,7		

Malgré ces concentrations si faibles, les acides malique et tartrique sont encore mortels pour le *Chlorella* et les poids secs produits par les acides succinique et citrique sont inférieurs à celui du milieu témoin. Quant à l'acide oxalique, il est le seul favorable mais sa décomposition, quoique peu accentuée, empêche de lui attribuer une influence heureuse directe dans la nutrition de cette Algue.

L'extrême sensibilité de *Chlorella* à l'action des acides organiques, rend l'étude de ces corps ternaires peu intéressante, au point de vue nutritif. Il faudrait, en effet, expérimenter avec des solutions tellement diluées, un milligramme p. 100 environ, que, dans les conditions où je me suis placé, les quantités de carbone que pourrait puiser la Plante dans son milieu de culture, seraient infinitésimales et partant incapables d'augmenter le poids sec d'une manière appréciable.

Si l'on rapproche, pour le même acide, les acidités « finales » des milieux sans Algue et avec Algue, on constate une notable différence à l'avantage des premiers, ce qui prouve bien que l'acide est absorbé par la Plante.

En résumé, les résultats obtenus avec les acides libres ne permettent pas d'affirmer l'assimilation des acides organiques

par le *Chlorella*, tout au moins dans ces conditions expérimentales, mais permettent de conclure à leur absorption.

Le *Chlorella* est d'une extrême sensibilité à l'action nocive des acides libres.

§ II. — RENDEMENT DES CULTURES DE *CHLORELLA* EN PRÉSENCE DES « SELS ACIDES »

Ces sels ont été préparés par neutralisation convenable de quantités d'acides libres dix fois plus grandes que celles indiquées dans le paragraphe précédent. J'exprimerai leurs concentrations en poids d'acide qu'ils renferment.

TABLEAU III.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1912, dans les milieux « sels acides » (durée : 120 jours).

MILIEUX de culture.	CONCEN- TRATION en acide p. 100 (milligr.).	POIDS sec (milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cubes sol. soude $\frac{N}{10}$).		
			Avec plante.		Sans plante.
			Acidité initiale.	Acidité finale.	Acidité finale.
Molisch (témoin).....	»	33,5	0,6	0,2	0,6
Molisch + KCl.....	»	40	0,6	0,2	0,6
Molisch + K ² SO ⁴	»	42,5	0,6	0,2	0,6
Molisch glucosé.....	66	61	0,6	alcalin	0,6
Malate monopotassique....	67	23	5,6	6,6	5,5
Tartrate —	75	»	5,6	»	5,6
Succinate —	59	27,5	5,6	0,3	5,6
Oxalate —	63	32	5,6	0,2	3,6
Citrate —	70	21,5	7,3	0,1	5,2
Citrate bipotassique.....	70	27	3,9	0,1	3,1

Le tartrate a été mortel pour le *Chlorella* et les autres sels ont fourni des rendements inférieurs à ceux des divers milieux témoins. Attribuant ces résultats défavorables à une action toxique de la part de ces sels organiques, j'ai diminué de moitié leurs concentrations.

J'ai fait, en 1913, comme pour les cultures en milieux « acides », des prélèvements d'Algues après 70 et 120 jours de végétation. Ici encore, le départ des cultures s'est effectué beaucoup plus tard dans les milieux « sels acides » que dans milieux témoins.

TABLEAU IV.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1913, dans les milieux « sels acides ».

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide p. 100 (en milligr.).	DURÉE : 70 JOURS.					DURÉE : 130 JOURS.				
		POIDS SEC (en milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).			POIDS SEC (en milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).				
			Avec plante.		Sans plante.		Avec plante.		Sans plante.		
			Acidité initiale.	Acidité finale.	Acidité finale.		Acidité initiale.	Acidité finale.	Acidité finale.		
Molisch (témoin).	»	18	0,7	alcalin	0,7	35	0,7	alcalin	0,7		
Molisch + KCl...	»	24	0,7	alcalin	0,7	40	0,7	alcalin	0,7		
Molisch + K ² SO ⁴ .	»	30	0,7	—	0,7	45	0,7	—	0,7		
Molisch glucosé.	33	37	0,7	—	0,7	55,5	0,7	—	0,7		
Malate monopotassique.	34	9	3,2	2,4	3,4	15	3,2	—	2,9		
Tartrate —	38	»	3,2	»	3,2	»	3,2	»	3,2		
Succinate —	30	12	3,2	2	3,2	20	3,2	—	3,2		
Oxalate —	32	15	3,2	0,8	2,8	55	3,2	—	2,6		
Citrate —	35	7	4	1,0	2,8	13	4	—	1,9		
Citrate bipotassique..	35	10	2,4	1,7	2,2	36	2,4	—	2		

L'interprétation des chiffres de ce tableau est absolument la même que celle du tableau précédent. L'oxalate donne bien un rendement très élevé, mais il s'est un peu décomposé.

Bien certainement l'acidité de ces composés a provoqué une action nocive sur le *Chlorella* et cela est si vrai, que les rendements des milieux préparés avec le citrate monopotassique sont moins forts que ceux renfermant le citrate bipotassique : je rappelle que ces solutions possèdent les mêmes quantités de carbone et ne diffèrent que par leur acidité.

Tous les liquides de culture de la seconde série (durée de végétation : 130 jours) étaient alcalins au moment de la récolte. Les milieux témoins ont nécessité 0^{cmc},15 de solution normale décime de soude pour leur neutralisation, tandis que ceux contenant les sels organiques en ont exigé 0^{cmc},45 environ. Or ces derniers étaient, au début, beaucoup plus acides que les premiers : l'acide organique a donc été absorbé.

En résumé, d'après ces expériences, les sels acides organiques de potassium sont bien absorbés par le *Chlorella*, mais aux doses utilisées, probablement trop élevées, je ne puis affirmer leur assimilation.

On peut remarquer que l'acidité organique des milieux constitués avec les sels acides est cinq fois plus forte que celle des milieux préparés avec les acides libres. Cependant la toxicité des premiers est bien moindre que la toxicité des seconds : la partie combinée de l'acide semble donc être la plus nocive. Autrement dit, les actions toxiques et partant nutritives, produites sur le Végétal par deux acidités égales, au point de vue de leur neutralisation volumétrique par une solution alcaline, l'une à l'état libre, l'autre à l'état de sel acide, sont tout à fait différentes : celle-là est plus nuisible que celle-ci. Comme la thermochimie apprend que les énergies chimiques des diverses fonctions acides d'un acide polyvalent sont inégales, peut-être y a-t-il une relation de cause à effet entre l'énergie chimique et la toxicité de ces fonctions.

§ III. — RENDEMENT DES CULTURES DE *CHLORELLA*
EN PRÉSENCE DES « SELS NEUTRES »

Comme pour les sels acides, j'exprimerai les concentrations de ces sels neutres en poids d'acide qu'ils contiennent. Ces poids sont d'ailleurs les mêmes que ceux du paragraphe précédent.

TABLEAU V.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1912, dans les milieux « sels neutres ». (durée : 120 jours).

MILIEUX de culture.	CONCEN- TRATION en acide p. 100 (milligr.).	POIDS sec (milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cubes sol. soude $\frac{N}{10}$).		
			Avec plante.		Sans plante
			Acidité initiale.	Acidité finale.	Acidité finale.
<i>Molisch</i> (témoin).....	»	33,5	0,6	0,2	0,6
<i>Molisch</i> + KCl.....	»	28	0,6	0,2	0,6
<i>Molisch</i> + K ² SO ⁴	»	30	0,6	0,2	0,6
<i>Molisch</i> glucosé.....	66	61	0,6	alcalin	0,6
Malate bipotassique.....	67	37	0,6	—	0,6
Tartrate —.....	75	49	0,6	—	0,6
Succinate —.....	59	50	0,6	—	0,6
Oxalate —.....	63	68,5	0,6	—	0,6
Citrate tripotassique.....	70	61	0,6	—	0,6

Les rendements sont, cette fois, très favorables aux composés

organiques et pour tous. Les poids secs obtenus avec les milieux Molisch additionnés de chlorure et de sulfate de potassium sont inférieurs à celui du Molisch seul. Ce fait tient à la quantité assez forte de potassium que renferment ces doses de composés minéraux, plutôt qu'aux radicaux acides, car le chlore est indifférent et l'acide sulfurique un bon aliment pour la Plante. L'action heureuse des sels organiques neutres ressort ainsi d'autant plus, puisqu'ils ont même teneur en potassium que les sels minéraux.

TABLEAU VI.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1913, dans les milieux « sels neutres ».

MILIEUX de culture.	CONCENTRATION en acide p. 400 (en milligr.).	DURÉE : 70 JOURS.					DURÉE : 130 JOURS.				
		POIDS SEC (en milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).			POIDS SEC (en milligr.).	ACIDITÉ DES MILIEUX (cent. cub. de sol. soude $\frac{N}{10}$).				
			Avec plante.		Sans plante.		Avec plante.		plante		
			Acidité initiale.	Acidité finale.			Acidité initiale.	Acidité finale.			
										Acidité finale.	
Molisch (témoin).	»	18	0,7	alcalin	0,7	35	0,7	alcalin	0,7		
Molisch + KCl.	»	18	0,7	alcalin	0,7	38	0,7	alcalin	0,7		
Molisch + K ² SO ⁴ .	»	26	0,7	—	0,7	40	0,7	—	0,7		
Molisch glucosé.	33	37	0,7	—	0,7	33,3	0,7	—	0,7		
Malate bipotassique..	34	33	0,7	—	0,7	47	0,7	—	0,7		
Tartrate —	38	33	0,7	—	0,7	41	0,7	—	0,7		
Succinate —	30	34	0,7	—	0,7	45	0,7	—	0,7		
Oxalate —	32	35	0,7	—	0,7	58	0,7	—	0,6		
Citrate tripotassique.	35	30	0,7	—	0,7	52	0,7	—	0,6		

Les rendements des cultures faites en présence des sels neutres sont supérieurs, très supérieurs même, pour la plupart d'entre eux, à ceux des divers milieux témoins. Ces sels sont stables et j'ai constaté que leurs solutions deviennent fortement alcalines, beaucoup plus que les solutions témoins. C'est ainsi que ces dernières ne parviennent guère qu'à une alcalinité variant entre 0^{me},1 à 0^{me},2 de solution normale décime, tandis que les premières atteignent 0^{me},6 (citrate, malate, succinate).

Le *Chlorella* paraît donc préférer, pour son développement, un milieu alcalin : peut-être est-ce la cause de sa grande susceptibilité à l'action des acides libres et sels acides.

On peut rendre apparent le changement de réaction des liquides de culture en y ajoutant, lors de leur ensemencement, une goutte de phénol phtaléine. Au bout d'un certain temps, on voit les solutions devenir rouges. Si on les neutralise aseptiquement à l'aide d'une solution d'acide sulfurique décimormale, on remarque à nouveau une nouvelle coloration. On peut ainsi continuer ces neutralisations jusqu'à disparition complète des acides organiques combinés ; à partir de ce moment, les solutions restent incolores, très probablement par le léger dégagement d'acide carbonique qui reste libre et dissous, puis l'Algue jaunit et meurt.

En résumé, les résultats consignés dans les deux précédents tableaux prouvent indubitablement que les sels organiques neutres de potassium sont absorbés et assimilés par le *Chlorella*. Et leur action nutritive est surtout due à l'acide organique qu'ils renferment.

Leur toxicité est relativement faible, car, sauf pour l'oxalate, ils permettent le développement de l'Algue à des doses égales au 1/25 des poids moléculaires des acides, c'est-à-dire environ 0gr, 50 p. 100 ; je n'ai pas dépassé ce poids.

§ IV. — ÉCHANGES GAZEUX A L'OBSCURITÉ

Voici, en un tableau, les quotients respiratoires trouvés avec le *Chlorella*, pour tous les milieux de culture et pour les deux années 1912 et 1913.

La détermination de ces quotients se fait assez facilement si l'on suit la technique que j'ai exposée dans le premier chapitre. La durée de la respiration, qui est de vingt-quatre heures, peut être prolongée sans aucun inconvénient, puisque l'Algue se trouve sur un substratum imprégné de son milieu de culture. Dans ce cas, il est tout simplement nécessaire d'augmenter le volume de l'air confiné afin que le taux de l'oxygène ne descende pas au-dessous de 8 p. 100, environ.

L'intensité respiratoire serait très intéressante également à connaître, mais il faut, pour cela, obtenir le poids frais de *Chlorella* soumis à la respiration. Cette détermination est par trop délicate, en raison de la quantité si minime d'Algue à expérimenter.

TABLEAU VII.

Quotients respiratoires de Chlorella vulgaris cultivé dans les milieux renfermant les acides libres, les sels acides et neutres de potassium.

MILIEUX de culture.	EXPÉRIENCES de l'année 1912.		EXPÉRIENCES de l'année 1913.	
	Concentration en acide.	Quotient respiratoire.	Concentration en acide.	Quotient respiratoire.
Molisch (témoin).....	»	0,77	»	0,80
Molisch glucosé.....	6,6	0,81	3,3	0,83
Acide succinique.....	5,9	0,91	3	0,93
— oxalique.....	6,3	0,95	3,2	0,96
— citrique.....	7	»	3,5	0,94
Molisch glucosé.....	66	0,86	33	0,85
Malate monopotassique...	67	0,96	33,5	0,92
Tartrate — ..	75	»	38	»
Succinate — ..	59	0,96	29,5	0,90
Oxalate — ..	63	0,85	31,5	0,90
Citrate — ..	70	»	35	0,93
Citrate bipotassique.....	70	0,82	35	0,86
Molisch + KCl.....	»	0,78	»	0,79
Molisch + K ² SO ⁴	»	0,80	»	0,82
Malate bipotassique.....	67	0,81	33,5	0,82
Tartrate — ..	75	0,83	38	0,81
Succinate — ..	59	0,77	29,5	0,80
Oxalate — ..	63	0,76	31,5	0,81
Citrate tripotassique.....	70	0,77	35	0,79

Les chiffres obtenus pour les deux années 1912 et 1913 sont assez concordants.

Les acides libres et les sels acides augmentent notablement le coefficient respiratoire, mais il faut, très probablement, attribuer cette action à la toxicité de ces composés.

Les sels neutres ne changent guère le quotient respiratoire.

CHAPITRE III

CULTURES EN ATMOSPHÈRE CONFINÉE

² I. — RENDEMENT DES CULTURES DE CHLORELLA, EN PRÉSENCE DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES ET DE LEURS SELS DE POTASSIUM.

Ces cultures, faites en 1912, ont été obtenues en bouchant

les boîtes de Roux, aussitôt après leur ensemencement, avec des bouchons en liège paraffinés. J'ai pris exactement les mêmes précautions que pour les cultures en air confiné dont il a été question au sujet des Phanérogames.

Les acides libres ont tous été mortels pour le *Chlorella*.

Dans les milieux constitués avec les sels acides et neutres, l'Algue s'est si peu développée qu'il m'a été impossible de la recueillir pour la peser. Les rendements, à en juger par celui donné par l'oxalate acide et qui a pu être déterminé pondéralement, pouvaient être de l'ordre du milligramme dans le milieu témoin de Molisch et s'élever à 3 milligrammes dans les milieux organiques les plus favorables. Aussi vais-je les apprécier quantitativement, en prenant comme terme de comparaison le rendement du milieu Molisch que je considérerai comme « passable ».

TABLEAU VIII.

Rendement des cultures de *Chlorella*, faites en 1912, dans les milieux renfermant les acides organiques combinés

MILIEUX de culture.	Concentration en acide p. 100. (Milligrammes.)	SELS ACIDES DE POTASSIUM.			SELS NEUTRES DE POTASSIUM.		
		Appréciation de la culture.	Acidité des milieux. (c. c. soude $\frac{N}{10}$)		Appréciation de la culture.	Acidité des milieux. (c. c. soude $\frac{N}{10}$)	
			Initiale.	Finale.		Initiale.	Finale.
<i>Molisch</i>	»	Passable.	0,6	0,6	Passable.	0,6	0,6
Molisch + KCl.....	»	Ass. belle.	0,6	0,6	Médiocre.	0,6	0,6
Molisch + K ² SO ⁴ ...	»	—	0,6	0,65	—	0,6	0,5
Molisch glucosé ...	66	—	0,6	0,2	Ass. belle.	0,6	0,2
Malate.....	67	Médiocre.	5,6	4,3	Ass. belle.	0,6	Alcaline.
Tartrate	75	Nulle.	5,6	»	Nulle.	0,6	»
Succinate.....	59	Belle.	5,6	4,3	—	0,6	»
Oxalate.....	63	12 millig.	5,6	2	—	0,6	»
Citrate monopotas.	70	Ass. belle.	7,3	4,2	»	»	»
Citrate bipotas....	70	Belle.	3,9	Alcaline.	—	0,6	»

Ces résultats, peu favorables aux acides et à leurs combinaisons, sont à rapprocher de ceux obtenus avec le saccharose par Charpentier, avec le *Cystococcus humicola*, en milieu également confiné et avec ceux de Bokorny et Kufferath dans l'obscurité. Il semble que le *Chlorella* ne peut parvenir à disloquer la com-

binaison potassique, pour tirer parti de l'acide organique. Cependant quelques rares milieux ont donné des rendements un peu supérieurs, en apparence, à ceux des milieux témoins. Mais il faut avouer que ces expériences ne sont guère probantes, au point de vue de l'utilisation des sels organiques.

En résumé, en air confiné, le *Chlorellane* paraît pas assimiler les acides organiques étudiés ainsi que leurs combinaisons, du moins dans les conditions où je me suis placé.

Conclusions générales de la deuxième partie.

En atmosphère libre, les acides organiques étudiés, ainsi que leurs combinaisons potassiques, sont absorbés par les Algues.

Mais, tandis que les sels neutres de potassium sont parfaitement assimilés, les acides libres et leurs sels acides, aux doses auxquelles je les ai expérimentés, ne le sont pas. Ces derniers résultats sont la conséquence de l'extrême sensibilité des Algues à l'action de l'acidité organique du milieu dans lequel elles se trouvent. Ces plantes, en effet, paraissent plutôt se complaire dans un milieu légèrement alcalin. Aussi n'est-il pas douteux, qu'essayés à des doses très minimes, qu'il faudrait d'autant plus souvent renouveler, les acides libres et leurs sels acides seraient également utilisés. C'est ainsi, d'ailleurs, qu'elles procèdent en présence des sels neutres : elles provoquent la mise en liberté d'une quantité infinitésimale d'acide, qui est aussitôt assimilée et remplacée par une autre de même grandeur qui subit le même sort et ainsi de suite.

En atmosphère confinée, ni les acides, ni leurs sels acides et neutres de potassium ne sont assimilés, du moins d'une façon bien nette.

TROISIÈME PARTIE

NUTRITION CARBONÉE DES CHAMPIGNONS A L'AIDE DES ACIDES ORGANIQUES LIBRES ET COMBINÉS

HISTORIQUE ET PLAN

On sait depuis fort longtemps que les sucres et acides organiques sont, en général, d'excellents aliments pour les Champignons, en particulier pour les Moisissures. Mais l'étude rationnelle de leur nutrition, comme l'a dit Duclaux, « a été impossible tant qu'on n'a su les cultiver que sur des milieux organiques complexes, dont la composition était toujours mal connue et où la nature et la quantité de l'aliment étaient également incertaines ». C'est donc à Pasteur, qui le premier constitua des milieux artificiels propres à la nutrition des Levures et des « Mucédinées », qu'il faut logiquement faire remonter cet historique.

Jodin, en 1862, remplaça dans ses liquides de culture, le sucre par la glycérine, les acides tartrique, succinique, lactique, acétique et oxalique. Il obtint de belles récoltes, mais il laissait croître à leur gré tous les organismes qui voulaient bien s'y développer, sans même en déterminer les espèces.

Bien que Raulin, 1869, dans son travail, resté toujours classique, avait surtout en vue l'étude de la nutrition minérale de l'*Aspergillus niger*, il détermina néanmoins l'influence, sur la récolte fungique, de doses de plus en plus élevées d'acide tartrique. Les concentrations comprises entre 1 et 63 grammes par litre lui ont fourni un poids sec à peu près constant : ce qui ne s'expliquerait guère, dit Duclaux, si l'acide était un aliment comparable au sucre. Mais, au-dessus de 63 grammes par litre, ce poids sec diminue et devient nul pour une teneur en acide de 250 grammes.

D'après Stutzer, 1877, et Nægeli, 1880, aucun Champignon ne peut se développer dans un milieu de culture où l'acide formique se trouve comme unique source de carbone (ce n'est pas

l'opinion de Bruhne), tandis que l'acide acétique est nutritif. L'acide oxalique n'a donné aucun résultat positif à Nægeli, contrairement aux acides acétique, lactique, tartrique, citrique, succinique, qui ont produit de belles cultures.

Cependant Diakonow, 1887, affirme que le *Penicillium glaucum* se développe dans un milieu ne renfermant que du formiate de potassium, comme seul aliment carboné. La liqueur devient alcaline par la mise en liberté de potassium combiné à l'acide brûlé, et, si on neutralise avec de l'acide formique, on constate l'utilisation d'une nouvelle quantité de cet acide.

Duclaux, 1885, dans son étude « Sur la valeur alimentaire de quelques substances pour l'*Aspergillus niger* », montre que l'acide acétique est brûlé jusqu'à la concentration de 8 à 10 p. 100 et l'acide butyrique jusque 1 à 2 grammes par litre. Dans un mélange des trois acides, acétique, tartrique et butyrique, l'*Aspergillus* consomme d'abord le premier, puis le second et enfin le troisième.

E. Laurent, en 1889, détermina avec beaucoup d'exactitude, à l'aide d'une levure de bière haute, la valeur nutritive carbonée d'un grand nombre de substances organiques. Il précisa également les conditions de formation du glycogène qui avait été découvert dans les cellules de ce microorganisme par Errera. Les acides organiques utilisables par ce Champignon sont, à la dose de 1 p. 100 :

Acide citrique	et	citrates.
— succinique	et	succinates.
— lactique	et	lactates.
— malique	et	malates.
— tartrique	et	tartrates.
»	»	» acétates.
— mucique	»	»
— fumarique	»	»

Ces expériences furent reprises en 1896 par Bokorny, qui obtint sensiblement les mêmes résultats : l'acide succinique, pourtant, se montra mauvais aliment.

D'après Linossier et Roux, 1890, l'acide lactique est un bon aliment pour les Champignons et l'acide tartrique serait le meilleur pour certains.

Dans son intéressant travail, Elfing, en 1890, expose les ré-

sultats de ses nombreuses cultures avec un *Briaræa* et un *Penicillium*, développés à l'obscurité et à la lumière. Il désirait surtout s'assurer si l'action de la lumière ne dépendait pas, à la fois, et du Champignon et de la composition du milieu nutritif. Pour cela, il compose une grande variété de milieux avec les dextroses, la mannite et, ce qui m'intéresse surtout, avec l'acide malique. Cet acide a produit des cultures très médiocres. Résultat prévu, dit Duclaux, car l'acide malique est connu comme un corps très résistant, presque comme un antiseptique.

Wehmer, 1892, remarqua que les acides organiques, même considérés comme alimentaires, exerçaient une influence néfaste sur la germination du *Penicillium glaucum* et de l'*Aspergillus niger*. C'est également ce qu'a trouvé Lesage, en 1896, avec les vapeurs d'acide acétique.

Beijerinck, 1893, prétend que les acétates et l'acide succinique sont utilisés par les « Mycodermes ».

Krüger, 1894, constate que 0gr,25 de tartrate d'ammonium p. 100 provoque un beau développement de *Prototheca Zopfii* et de *P. moriformis*.

J. Laborde, 1896, fit une étude biologique complète de l'*Eurotiosis Gayoni*, nouvel ascomycète qu'il découvrit sur de l'empois d'amidon. Ce Champignon se comporte ainsi, vis-à-vis des acides organiques qu'on lui fournit à la dose de 5 p. 100 : les acides tartrique et citrique ne sont pas décomposés, ni par les spores, ni par le mycélium. L'acide oxalique est brûlé par la plante adulte seulement. Les acides lactique, succinique et malique permettent le développement des spores; ce dernier, pourtant, est inférieur aux autres et se rapprocherait plutôt de l'acide tartrique. On voit, dit cet auteur, que la Moisissure éprouve des difficultés de plus en plus grandes pour détruire la molécule d'acide, à mesure que celle-ci se complique. Les acides volatils, formique à 1 p. 100, acétique et propionique à 2 p. 100, butyrique à 0,80 p. 100, exercent déjà une action toxique sur ce Champignon. Laborde a également étudié l'influence de quelques-uns de ces acides sur le rendement p. 100 de l'aliment consommé. Il a trouvé que les acides organiques, lactique et succinique, fournissent un rendement peu élevé par rapport aux sucres.

La même année, Schukow s'est demandé si les levures pures de vin, de brasserie, de distillerie pouvaient consommer divers acides comme malique, tartrique, citrique, succinique, à des concentrations de 9 à 10 p. 1000. Ses conclusions sont que tous ces composés sont parfaitement utilisés : l'acide citrique l'est beaucoup plus que l'acide malique, celui-ci plus que les acides lactique et succinique.

Bruhne (1), avec l'*Hormodendron hordei*, a trouvé que l'acide succinique était un bon aliment, mais que l'acide tartrique n'était pas assimilé et l'acide citrique sans valeur.

Müller-Thurgau avait aussi remarqué, toujours en 1896, qu'en laissant vieillir une levure dans le vin qu'elle avait produit, l'acidité diminuait d'une façon très nette et que cet organisme en était surtout la cause.

Gerber, en 1897, dans sa thèse si remarquable « La maturation des fruits charnus », nous fait connaître quelques résultats très intéressants et assez inattendus sur la nutrition du *Sterigmatocystis nigra* dans un milieu de Raulin saccharosé et additionné de chacun des acides malique, tartrique et citrique : à 20°, ce Champignon assimile aussi bien le saccharose que les acides et à 35°, ces derniers sont préférés au sucre.

Pour Kayser et Boullanger, 1898, l'acide acétique et divers acides volatils peuvent être consommés par les Levures.

Duggar, 1901, contrairement à Wehner, prétend que les acides organiques auraient une action excitatrice sur la germination de *Penicillium* et de l'*Aspergillus*. Le poids des récoltes et le rendement sont augmentés.

Meier, également, a vu que beaucoup d'acides organiques oxygénés sont brûlés par le *Penicillium*.

Meissner, 1901, cultiva les *Mycoderma aceti* et *cerevisiæ* sur du moût de bière acidifié par l'acide acétique et constata sa destruction. L'acide malique était favorable pour certaines races de Levures et nuisible pour d'autres. Mais, dans des solutions ne renfermant que des acides organiques comme source de carbone, le même auteur observa que l'acide tartrique ne convenait pas pour la nutrition des cellules de *Mycoderme*, tandis que les

(1) Cité d'après Lafar.

acides lactique, citrique et succinique étaient très favorables.

Seifert, dès 1899, était arrivé aux mêmes résultats.

Went (1) trouve que les acétates, lactates, succinates, malates, tartrates sont peu utilisables pour *Monilia* et les citrates pas du tout.

Artari, 1904, expérimentant sur le *Saccharomyces Zopfii* a constaté que les acides tartrique et citrique sont bien utilisés ; les lactates, peu ; les malates, mal.

Otto Ripke, en 1910, fit des recherches très originales sur l'action des Champignons imparfaits sur les acides organiques. Il avait surtout en vue de connaître le processus de décomposition de ces composés et de se rendre compte si celle-ci était due ou non à des réactions chimiques provoquées par la vie des Champignons. A cet effet, il a entrepris de nombreux essais avec des Champignons vivants et tués. La seule partie de son travail qui m'intéresse, a trait aux cultures des *Mycoderma cerevisiæ*, *aceti* ; du *Monilia candida* et *Oidium lactis*, dans le milieu de Uschinsky renfermant les acides organiques à des concentrations comprises entre 0,33 et 3 p. 100. Il est important de remarquer que les acides organiques ne constituaient pas la seule source de carbone offerte aux divers Champignons imparfaits : le milieu de Uschinsky renferme, en effet, de la glycérine et de l'asparagine. Voici les résultats trouvés après un mois et demi de culture : l'acide formique, à la concentration de 0,33 p. 100 au maximum, permet au *Monilia* seul de se développer, 77 p. 100 de l'acide sont consommés. Dans l'acide acétique à 1,12 p. 100, c'est le *Mycoderma cerevisiæ* seul qui peut vivre, 2 p. 100 d'acide sont brûlés. Aucun développement dans l'acide butyrique. Les acides succinique et lactique sont de bons aliments pour le *cerevisiæ* et l'*Oidium*, 80 p. 100 de ces corps disparaissent. Dans l'acide malique, le *cerevisiæ* seul ne se développe pas, tandis que dans l'acide citrique c'est l'*aceti*. Avec ce dernier acide, un fait intéressant a été constaté par Ripke : l'*Oidium*, quoique ayant fourni un beau développement, n'a consommé aucune trace d'acide.

Comme dernier travail, je citerai celui tout récent de Kiesel, en 1913, sur « L'action de divers acides et sels d'acides sur le

(1) Cité d'après Lăfar.

développement de l'*Aspergillus niger* ». Cet auteur a déterminé, en milieu Raulin, l'activité comparative des acides et des sels vis-à-vis des trois phénomènes suivants : la germination, la formation du mycélium et la formation des conidies. C'est, en somme, une étude de toxicité qui ne rentre pas dans le cadre de mes recherches. Cependant la dernière partie de ce travail si précis offre un certain intérêt pour moi ; elle concerne le changement de l'acidité des cultures en présence d'acides pendant le développement de la Plante, fait qui, d'après Kiesel, serait assez général : l'acidité augmente au début pour diminuer après. La cause qui paraît être très complexe avec l'*Aspergillus niger*, serait due à la formation d'acides inconnus, et aussi, en partie, à des acides minéraux mis en liberté, dit cet auteur.

Fernbach avait déjà signalé cette particularité avec le même *Aspergillus* précisément, en milieu glucosé et l'avait attribuée « à la formation bien connue d'acide oxalique ». Laborde, lui, a constaté avec son *Eurotiosis*, une augmentation de l'acidité du milieu en présence des sels ammoniacaux et une diminution avec les nitrates. Tanret, également, avait obtenu un accroissement d'acidité dans le cas où il introduisait beaucoup de sels ammoniacaux dans le liquide de culture et l'expliquait par la mise en liberté des acides minéraux.

En somme, aucune étude d'ensemble complète n'a été faite sur la nutrition des Champignons, en particulier des Périssporiacées, par les acides organiques et leurs sels, surtout. Les travaux cités dans l'historique précédent sont, en général, plutôt conçus dans le but de savoir si tel ou tel acide organique est favorable ou non au développement des Champignons que d'en mesurer la valeur nutritive absolue : il y est, en effet, rarement question de poids sec des récoltes fongiques. De plus, les milieux de culture employés renferment, le plus souvent, d'autres corps carbonés que les acides organiques à expérimenter.

Je diviserai cette partie de mon travail en trois chapitres. Dans le premier je décrirai la technique suivie pour ces recherches. Dans les deuxième et troisième j'exposerai les résultats obtenus respectivement avec les acides libres et leurs sels de sodium, acides et neutres.

CHAPITRE PREMIER

TECHNIQUE

1° *Choix du Champignon*. — J'ai eu recours, comme sujet d'expérience, au *Penicillium glaucum* (Link). C'est, des Champignons, le moins délicat sur le choix de ses aliments, dit Duclaux et le plus ubiquiste, comme l'écrit Alfred le Renard. De plus, le cycle de son développement est plus long que celui de l'*Aspergillus niger*, mis tant à contribution depuis Raulin, ce qui permet de suivre plus facilement l'utilisation des acides qu'on lui fournit.

2° *Milieu de culture adopté*. — Le milieu de culture de Raulin a été adopté, avec quelques légères modifications indispensables : le sucré et l'acide tartrique ont été supprimés et les carbonates de potassium et de magnésium remplacés par les sulfates correspondants ; de plus, un peu de calcium a été ajouté, selon la recommandation de Duclaux.

Voici d'ailleurs la formule exacte de ce Raulin modifié :

	Grammes.
Nitrate d'ammonium	0,266.
Phosphate acide d'ammonium.....	0,04.
Sulfate de magnésium.....	0,026.
— de potassium.....	0,04.
— d'ammonium	0,017.
— de zinc.....	0,0046.
— de fer.....	0,0046.
Silicate de potassium	0,0046.
Nitrate de calcium	0,01.
Eau distillée.....	100 cent. cubes.

dans lequel ne rentre aucune trace de carbone. Tout développement de Champignon est donc absolument impossible dans un tel milieu sans carbone.

3° *Concentration des acides organiques à expérimenter*. — Les acides organiques à étudier sont introduits dans 100 centimètres cubes de ce milieu, à des doses telles, équimoléculaires pour la plupart, que toutes les cultures renferment rigoureusement la

même quantité de carbone ainsi que la même acidité (1). Ces conditions physico-chimiques sont surtout très importantes à réaliser ici, où, contrairement aux Phanérogames et Algues, leurs solutions sont très concentrées. Cependant je crois être le premier qui, dans de telles recherches, ait appliqué ces règles : les divers auteurs se sont contentés, en effet, de dissoudre dans leurs milieux de culture poids égaux d'acides. Ceux-ci possédant des poids moléculaires assez différents, il en résulte que les quantités de carbone offertes au végétal, les acidités et les forces osmotiques sont très inégales. Il est donc bien téméraire, en procédant ainsi, de comparer entre elles les valeurs nutritives de ces composés organiques.

Pour mieux fixer les idées sur les résultats obtenus, j'ai fait des cultures témoins avec du glucose dont la teneur en carbone était exactement la même que celle des acides.

J'ai déterminé, tout d'abord, par des essais préliminaires, les concentrations acides favorables au développement du *Penicillium* qu'il ne faut pas dépasser, sous peine de voir intervenir une action par trop toxique. Ces concentrations limites sont le 1/25^e des poids moléculaires p. 100, sauf pour l'acide oxalique. J'ai, dès lors, adopté pour la plupart des acides organiques, les 1/25^e, 1/50^e et 1/100^e de leurs poids moléculaires (P. M.) p. 100, dont voici la représentation en grammes :

	1/25 ^e du P. M.	1/50 ^e du P. M.	1/100 ^e du P. M.
Acide malique.....	5,36	2,68	1,34
— tartrique	6	3	1,50
— citrique.....	5,60	2,80	1,40
— succinique.....	4,72	2,36	1,18
— oxalique.....	10,08	5,04	2,52
Glucose	5,28	2,64	1,32

Pour l'acide citrique et le glucose, ces chiffres ne correspondent pas à ces fractions de leurs poids moléculaires, mais bien à des teneurs égales en carbone, ce qui entraîne pour le premier une acidité égale à celle des autres acides (2). Je dirai de suite, pour ne plus y revenir, que l'acide oxalique a été constamment mortel à ces doses pour le *Penicillium*. A celle de 0gr,25 même.

(1) Sauf pour l'acide oxalique, qui d'ailleurs n'a fourni aucune culture.

(2) Sauf pour l'acide oxalique. — Voir au sujet de ces particularités la note 2, page 16.

il ne permet le développement que d'un léger duvet blanchâtre dont le poids sec a atteint 0gr,03 au bout de trente jours de végétation.

4° *Préparation des milieux de culture renfermant les sels acides et neutres.* — Les sels acides et neutres ont été préparés en neutralisant, comme il convient, les mêmes poids d'acides organiques, dissous dans le minimum d'eau redistillée, avec une solution de soude suffisamment concentrée pour que le volume total soit inférieur à 50 centimètres cubes. On parfait ce volume avec de l'eau redistillée et on ajoute 50 centimètres cubes de liquide de Raulin d'une concentration deux fois plus forte que celle du milieu dont j'ai donné la formule. Le sodium a été choisi de préférence, pour les motifs suivants : il ne possède, au point de vue nutritif, aucune action et, de plus, ses combinaisons organiques sont toutes très solubles.

5° *Réipients employés pour le développement des cultures.* — Les milieux de culture, dont le volume est, je le répète, de 100 centimètres cubes, ont été contenus d'abord dans des matras de 750 centimètres cubes, aussi semblables que possible : la couche liquide avait environ trois centimètres d'épaisseur. Pendant deux ans, les nombreux développements de mon *Penicillium* se sont parfaitement effectués à 26° ; puis, brusquement, les mycélium se sont ensuite immergés. J'ai donc abandonné ces vases et ai adopté les boîtes de Roux de un litre, dans lesquelles la hauteur du liquide n'était plus que de quelques millimètres et que j'ai placées sur une table du laboratoire, dont la température était de 20-22°. Comme Alfred le Renard, j'ai remarqué que la lumière accélérât la sporulation, tout en lui donnant un ton vert plus vif et augmentait notablement la transpiration.

6° *Ensemencement des milieux de culture.* — Toutes ces solutions, ainsi préparées, sont ensuite stérilisées à l'autoclave et ensemencées. L'ensemencement, dans ce genre d'expériences comparatives, est, comme chez les Algues, assez délicat, car il faut, autant que possible, répartir dans tous les vases, je ne dirai pas un nombre égal de spores, c'est évidemment impossible, mais des quantités aussi peu différentes les unes des autres. Voici comment j'ai opéré : d'une culture sur carotte,

renouvelée aussisouvent qu'il était nécessaire, je prélevais, avec une öse, des spores de *Penicillium* que je transportais dans un petit matras renfermant 50 centimètres cubes de Raulin modifié, glucosé à 1 p. 100 et quelques morceaux de ponce ; le tout était stérilisé, au préalable. Le *Penicillium* se développait donc dans un milieu non acide et quand les spores étaient bien mûres, c'est-à-dire vert foncé, on décantait le liquide et on le remplaçait par de l'eau redistillée. Après plusieurs lavages, toujours aseptiquement faits, on ajoutait environ 50 centimètres cubes d'eau stérilisée et on agitait le matras énergiquement. Le mycélium, peu épais, facilement désagrégé par la ponce, abandonnait ses spores au liquide. On filtrait ensuite, toujours aseptiquement, dans un petit appareil stérilisé, composé d'un petit matras dont le goulot était obturé par un gros tube effilé entouré de coton. Ce tube bouché à l'ouate contenait, reposant sur sa partie rétrécie, un petit tampon de coton hydrophile très peu tassé. Le tout constituait ainsi un appareil de filtration aseptique, qui laissait passer les spores dans le matras et retenait la presque totalité du mycélium. On était dès lors en possession d'une suspension très riche de spores, de couleur verdâtre ; dont on prélevait un centimètre cube pour ensemençer chaque liquide de culture.

7° *Récolte du mycélium. — Détermination de son poids sec. — Calcul du rendement pour 100 grammes d'aliment consommé.* — Pour récolter le Champignon, on retournait brutalement le vase sur une capsule à fond plat dans laquelle le liquide l'entraînait avec lui. Saisi avec une pince pour le laisser égoutter, on le comprimait dans la main afin d'en extraire la solution nutritive le plus possible. Après trois courtes macérations successives de son mycélium dans l'eau distillée qu'il absorbe comme une éponge et suivies d'expressions, on pouvait le considérer comme suffisamment bien lavé. Les eaux de lavage recueillies et réunies au liquide nutritif de façon à obtenir, au besoin avec de l'eau distillée, un volume total de 150 centimètres cubes, étaient portées à l'ébullition et filtrées soigneusement : ce sera la liqueur A. Le mycélium asséché ensuite entre deux feuilles de papier-filtre était porté et maintenu dans l'étuve à 105° pendant quarante-huit heures, puis enfin pesé.

Connaissant le poids sec et la quantité d'acide consommé, il est facile de calculer le rendement p. 100 d'aliment utilisé.

8° *Dosage des aridités totale, fixe et volatile des milieux constitués avec les acides libres.* — Quand il s'agissait de suivre qualitativement la destruction progressive des acides, afin de récolter le Champignon lorsque ceux-ci étaient complètement brûlés, j'ai utilisé, pour les milieux renfermant les acides-alcools, malique, tartrique, citrique, la réaction suffisamment sensible et très simple de Berg et Gerber. Pour l'acide succinique, sur lequel ce réactif n'agit pas, j'ai employé le perchlorure de fer, en liqueur neutre.

Mais quand il fallait déterminer la quantité d'acide organique qui restait dans la culture, à un moment donné du développement du Champignon, j'ai procédé d'une façon différente de celle suivie jusqu'ici et qui consistait à doser l'acidité du milieu tel quel; à l'aide d'une liqueur alcaline titrée. Cette méthode est entachée d'une erreur qui peut atteindre 0,87, 20 p. 100 en plus et qui tient à ce qu'elle englobe un acide minéral, l'acide nitrique (1), libéré de sa combinaison ammoniacale par le *Penicillium glaucum*. La présence de cet acide, à l'état libre, est très intéressante : elle a déjà été signalée à diverses reprises comme probable, mais jamais ses variations dans le cours d'un développement mycélien n'ont été étudiées. Je reviendrai d'ailleurs sur ce point dans un travail ultérieur, car il a une importance réelle et à ce titre il mérite d'être examiné de plus près.

On prélève dans la liqueur A précédente, refroidie à la température du laboratoire, 25 centimètres cubes dont on détermine l'acidité que j'appellerai « totale », en présence de la phthaléine, avec une solution normale ou décimale de soude, selon la plus ou moins grande quantité d'acide existant. Cette solution neutre est mise de côté pour servir au dosage de l'ammoniaque.

D'autre part, on fait un second et égal prélèvement de la liqueur A que l'on évapore dans une capsule à fond plat, d'abord au bain-marie jusque réduction à 5 centimètres cubes environ et ensuite dans une étuve réglée à 35-40°, où la capsule séjourne aussi

(1) Les autres acides minéraux peuvent également être mis en liberté, en partie, mais ils n'existent dans le milieu Raulin qu'en proportions minimes.

longtemps qu'on ne perçoit plus l'odeur d'acide nitrique. Il n'y a aucun inconvénient à laisser ainsi pendant plusieurs jours les divers acides organiques, sauf l'acide succinique qui, dans ces conditions, est volatil. Ce dernier temps de l'opération est très important à exécuter à cette basse température, car, au bain-marie, l'acide nitrique libre décomposerait une partie de l'acide organique, ou bien celui-ci pourrait déplacer un peu d'acide du nitrate ammoniacal. Et, dans le vide, sa volatilisation ne serait pas suffisamment complète. Le résidu sec, ainsi obtenu, est dissous dans un peu d'eau distillée neutre et son acidité est dosée par acidimétrie : c'est ce que je nommerai « acidité fixe », uniquement due (1) à l'acide organique. Il est maintenant facile de rapporter les acidités précédentes au volume total du milieu, en multipliant les résultats trouvés par six.

L'acidité fixe soustraite de l'acidité totale, donnera « l'acidité volatile » attribuée à l'acide nitrique, comme je m'en suis rendu compte et que j'exprimerai en centimètres cubes de solution décijnormale de soude. Une semblable appellation peut ne pas être heureuse, mais, si je l'ai adoptée, c'est parce qu'elle contraste avec l'acidité fixe et que, de plus, cet acide est dosé par volatilisation. Jamais, dans les milieux de culture acides et glucosés, il ne s'est formé d'acide oxalique, ni d'acide organique volatil, ni d'azotite. Dans les seuls milieux renfermant les citrates mono et bisodiques j'ai décelé la présence d'acide oxalique.

La quantité totale d'acide nitrique que renferme le liquide de Raulin modifié correspond à 34 centimètres cubes de solution décijnormale.

9° *Dosage des acides organiques libres et combinés dans les milieux renfermant les sels acides organiques.* — La détermination de l'acidité telle quelle de ces milieux, qu'on ne peut plus dénommer totale, mais plutôt « apparente », s'effectue par simple dosage acidimétrique. Elle n'a d'ailleurs qu'un intérêt relatif, car elle ne donne aucune indication sur la teneur en acide combiné et, de plus, elle est faussée par la mise en liberté d'acide organique que déplace, de sa combinaison sodique, l'acide nitrique libéré. Néanmoins, elle me permettra de suivre la réac-

(1) Et aussi à quelques traces d'acides phosphorique et sulfurique.

tion des milieux de culture et surtout d'obtenir des solutions neutres afin d'y doser l'ammoniaque restant. Quant à la connaissance du poids total d'acide organique libre et combiné, que renferment ces liquides de culture pendant le cours du développement du *Penicillium*, elle peut se faire au moyen de l'artifice suivant : on déplace entièrement l'acide organique combiné par addition, en léger excès, d'acide nitrique pur ou dilué, en présence d'un orangé 3 Poirier qui ne vire nettement qu'au contact des acides minéraux forts. On se trouve ainsi dans les mêmes conditions que pour le dosage de l'acidité fixe des milieux acides précédents.

Il est impossible, en suivant la méthode décrite plus haut, d'apprécier la teneur en acide nitrique libre, puisque celui-ci ne peut exister à cet état dans une solution renfermant un sel organique.

10°. *Dosage de l'ammoniaque existant dans les milieux de culture durant le développement du Penicillium.* — J'ai appliqué, pour suivre les variations de l'ammoniaque dans le liquide de culture, le procédé de Ronchèse, devenu classique, qui consiste à ajouter à une solution neutre d'un sel ammoniacal, une solution également neutre de formol : le mélange devient acide par mise en liberté de tout l'acide combiné à l'ammoniaque et formation d'hexaméthylène-amine. De la quantité d'acide que l'on détermine par acidimétrie, en présence de la phtaléine du phénol, on déduit celle de l'ammoniaque. Ce dosage est exécuté dans la liqueur qui a fourni l'acidité apparente, pour les milieux renfermant les sels-acides et dans la liqueur qui a fourni l'acidité totale, pour les milieux acides.

La teneur en ammoniaque de ces milieux, qui ne contiennent aucun acide amidé ou autre corps précipitable par le formol, sera représentée en centimètres cubes de solution décimale alcaline. Quant à celle du milieu Raulin modifié, de nombreux dosages l'ont fixée à 37^{me},5 pour 100 centimètres cubes.

CHAPITRE II

NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES ACIDES
ORGANIQUES LIBRES

Ce chapitre comprendra trois paragraphes. Dans le premier j'exposerai les résultats obtenus, concernant les poids secs de *Penicillium* et les rendements pour cent grammes d'aliment consommé, avec les cultures provenant de tous les milieux organiques.

Pour ces déterminations, on effectue habituellement les récoltes au moment où l'aliment est complètement disparu des liquides de culture. C'est ainsi que j'ai procédé pour étudier l'influence nutritive de doses croissantes d'acide sur le végétal.

Mais, dans le cours de mes essais, j'ai cru remarquer que les valeurs maxima du poids sec et du rendement p. 100 avaient plutôt une certaine corrélation avec le phénomène, si apparent, de sporulation du Champignon qu'avec l'utilisation complète de l'acide. Aussi, afin d'élucider ce point intéressant, j'ai récolté le mycelium aux trois états végétatifs suivants : 1° au début de la sporulation, caractérisé macroscopiquement par une légère teinte verte du mycélium ; 2° en pleine sporulation, c'est-à-dire lorsque les spores sont vert-vert ; 3° à un stade plus avancé, fixé par la couleur vert-vert foncé ou brun-vert que prennent ensuite les spores ; et au moment précis où le liquide ne renferme plus d'acide. J'ai ainsi reconnu que tous les rendements et, en général, les poids secs étaient maxima au début de la sporulation et que celle-ci se produisait avant la consommation totale de l'acide organique. Comme, d'une part, la sporulation ne vient que tardivement et que, d'autre part, les diverses récoltes, pour un même acide, sont assez espacées les unes des autres, surtout quand il s'agit d'un végétal qui double son poids en quelques jours, les faits constatés peuvent manquer de précision, dans le temps et bien d'autres ont pu échapper à l'observation. C'est pourquoi j'ai, dans d'autres séries de recherches, prélevé le mycélium à des intervalles de temps beaucoup plus rappro-

chés : deux ou trois jours. Chacune de ces considérations entraîne une division du paragraphe.

Dans le deuxième, j'étudierai les variations des acidités fixe et volatile, que j'ai définies dans le premier chapitre, des milieux de culture durant le développement du *Penicillium*. Elles me permettront, d'abord, de montrer la formation progressive d'acide nitrique, mis en liberté par l'assimilation d'une quantité correspondante d'ammoniaque du nitrate ammoniacal que renferme normalement le Raulin ; et, ensuite, sa disparition plus ou moins accentuée, selon les besoins en azote du mycélium. Il résulte de cette nutrition azotée du végétal, dont l'origine est double, des fluctuations incessantes, qu'il est utile de connaître, dans la teneur en acide nitrique et en ammoniaque des liquides de culture.

L'acidité volatile est égale, je le rappelle, à la différence entre les acidités totale et fixe : elle n'est pas négligeable puisqu'elle atteint toujours dans chaque milieu, une valeur maxima qui correspond à 0gr,20 environ d'acide nitrique.

La production et la destruction de cet acide minéral sont, en outre, à un tout autre point de vue, très importantes à suivre de près car elles me fourniront l'explication des variations de l'acidité des milieux Raulin ou analogues, signalées par quelques auteurs. Dans les liquides que j'ai expérimentés, sauf celui contenant le glucose, l'augmentation momentanée de leur acidité que Kiesel considère, avec juste raison, comme générale avec l'*Aspergillus niger*, ne peut se constater, comme j'en donnerai plus loin la raison bien simple.

Après avoir dosé les quantités d'acide nitrique libre qui se forme ainsi dans les divers milieux, il était indispensable pour en préciser l'origine, de se renseigner sur les teneurs concomitantes de l'ammoniaque. Et, du rapprochement des chiffres trouvés pour l'un et l'autre je déduirai des remarques sur l'utilisation de l'azote ammoniacal et la mise en liberté d'acide nitrique, dont l'opposition constituera une deuxième preuve, pour ainsi dire biologique, de l'existence à l'état libre de cet acide dans les milieux de culture. Ce sera l'objet du troisième paragraphe.

§ 1. — DÉTERMINATION DES POIDS SECS ET DES RENDEMENTS. P. 100 D'ALIMENT CONSOMMÉ DES CULTURES DE *PENICILLIUM*.

A. — AU MOMENT OU L'UTILISATION DES ACIDES EST COMPLÈTE.

Ces essais ont pour but de rechercher l'influence nutritive que peuvent exercer, sur le Champignon, des doses croissantes d'acide organique. Ils ont été poursuivis dans des boîtes de Roux, à la température de 20-22° qui est la température optima, d'après Le Renard. J'ai déterminé, en plus des poids secs et des rendements, les quantités restantes d'ammoniaque et les acidités fixe et volatile existant dans les milieux, au moment de chaque récolte. Je rappelle que 100 centimètres cubes du liquide de Raulin modifié renferment des quantités d'ammoniaque et d'acide nitrique correspondant pour le premier à 37^{me},5 et le second à 34 centimètres cubes de solution décimale alcaline ou acide.

TABLEAU I.

Poids secs de cultures de *Penicillium* et rendements p. 100 d'aliment consommé.

MILIEUX de culture.	SÉRIE.	Concentration p. 100. (en grammes.)	Durée de la culture. (en jours.)	POIDS sec. (en gr.)	RENDEMENT p. 100.	AMMO- NIAQUE restant (en c. c. solut. $\frac{N}{10}$)	ACIDITÉS EXIS- TANTES (en cent. cubes solution $\frac{N}{10}$)		CONSUMMA- TION (en cent. cubes solution $\frac{N}{10}$)	
							Fixe.	Volatile.	d'AzH ³ .	d'AzO ⁵ H
Acide malique...	1	1,34	6	0,290	21,6	18,9	4,8	15	18,6	19
	2	2,68	8	0,510	19	9	4,	23	28,5	11
	3	5,36	12	0,980	18,3	8,4	1,5	1	29,1	33
Acide tartrique ..	1	1,50	12	0,195	13	24,6	6	8,4	12,9	25,6
	2	3	16	0,318	10,6	21	5,2	16	16,5	18
	3	6	22	0,590	9,8	7	0,7	0,6	30,5	33,4
Acide succinique.	1	1,18	6	0,335	28,4	22,8	4	17	14,7	17
	2	2,36	8	0,615	26,1	7,8	3	21	29,7	13
	3	4,72	14	1,080	22,8	5,1	0,3	0,9	32,4	33,1
Acide citrique ...	1	1,40	6	0,257	18,4	20,4	4,5	13,2	17,1	20,8
	2	2,80	8	0,546	18,5	9	3	21,3	28,5	12,7
	3	5,60	12	1,028	18,4	5,4	1,5	3,3	32,1	30,7
Glucose ...	1	1,32	6	0,370	28	16,5	3	17,4	21	16,6
	2	2,64	6	0,820	31,1	11,4	2,5	7,1	26,1	26,9
	3	5,28	6	1,860	35,2	0,6	1,2	2,4	36,9	31,6
Raulin . . .	»	»	»	»	»	37,5	»	34	»	»

Les chiffres de ce tableau peuvent s'interpréter ainsi :

1° Les rendements des cultures de *Penicillium* diminuent lorsque les concentrations augmentent. Cependant, ici, l'acide citrique paraît n'avoir aucune influence à ce point de vue, mais dans d'autres cultures les rendements ont néanmoins légèrement baissé avec des doses croissantes.

Avec le glucose c'est le contraire qui se produit, mais il constitue un véritable aliment dépourvu, pour ainsi dire, de toute toxicité.

2° En se basant sur les rendements, les acides étudiés se classent, d'après leur action favorable décroissante, de la façon suivante : acides succinique, malique, citrique, tartrique. Les acides malique et citrique, comme cela s'est réalisé chez les Phanérogames, sont à peu près équivalents.

3° Les quantités d'ammoniaque qui restent dans les liquides de culture s'amoindrissent au fur et à mesure que les poids secs augmentent avec les concentrations, ce qui est tout à fait normal. Mais, si cette diminution paraît être en rapport avec l'accroissement du poids sec pour les cultures des première et deuxième séries, elle ne l'est plus pour les cultures des deuxième et troisième. Ainsi, si je prends comme exemple le milieu malique, on constate que le mycélium, pour passer du poids 0gr,51 à celui de 0gr,98, n'a utilisé que l'azote contenu dans 6cc,6 d'ammoniaque décijnormale, tandis qu'il en a exigé beaucoup plus, celui de 9cmc,9 d'une même solution, pour accroître son poids de 0gr,29 à 0gr,51.

Il semblerait, en ne considérant que ces chiffres, que le *Penicillium* arrivé à ce dernier stade, n'ait presque plus besoin d'azote pour édifier sa masse protoplasmique, qui, cependant, double approximativement son poids sec, ce qui est bien invraisemblable. Mais, si nous examinons les résultats obtenus pour l'acidité volatile ou acide nitrique libre des mêmes cultures, nous voyons que le Champignon a décomposé, dans le dernier des cas précédents, 8 centimètres cubes de solution nitrique décijnormale pour 9cmc,9 de solution ammoniacale de même titre ; et, dans le premier, 22 centimètres cubes de solution nitrique pour 6cmc,6 ammoniacale : l'azote nitrique a donc compensé l'azote ammoniacal.

J'exposerai d'ailleurs plus loin, avec détails, l'utilisation comparée de l'azote provenant de ces deux sources pendant le cours du développement mycélien.

4° Quant à l'acidité fixe qui est bien petite à côté de l'acidité volatile, tout au moins pour les deux premières séries de cultures, est-elle due aux acides sulfurique et phosphorique ou bien à des acides inconnus, comme le pense Kiesel pour les cultures avec l'*Aspergillus niger*? je ne m'en suis pas préoccupé : ce serait sortir un peu trop de mon sujet. Cependant, en raison de ce fait que ces acidités fixes diminuent avec l'importance pondérable du mycélium, elles sont vraisemblablement constituées par des corps assimilables. Aussi croirais-je bien volontiers à la présence des acides sulfurique et phosphorique libres.

5° Si pour chaque série de cultures on calcule, comme je l'ai fait, en centimètres cubes de leur solution décimale, les quantités d'ammoniaque et d'acide nitrique utilisées, on remarque que les cultures de la première série ont prélevé sur ces deux composés une égale proportion d'azote, approximativement. Celles de la deuxième série, un poids d'azote ammoniacal beaucoup plus fort, environ deux fois, que celui d'azote nitrique. Enfin les cultures de la troisième série, très exigeantes à ce point de vue, ont fait appel équitablement à presque toutes les ressources en azote que possèdent ces deux corps. L'acide tartrique seul fait exception, pour les deux premières séries de cultures, mais c'est un aliment médiocre dont l'assimilation est lente.

B. — POIDS SECS ET RENDEMENTS OBTENUS PENDANT ET APRÈS L'UTILISATION DES ACIDES ORGANIQUES.

1° A divers moments fixés par quelques états végétatifs du *Penicillium* et à celui où l'utilisation des acides est complète. — Ces expériences ont été faites à l'aide de matras maintenus à la température de 26°, dans une étuve. Ces vases n'offrant pas une aussi grande surface de culture que les boîtes de Roux et la température n'étant pas celle de l'optima, le développement du *Penicillium*, toutes choses égales d'ailleurs, a été plus long, ce qui présente certains avantages.

TABLEAU II.
Poids secs et rendements p. 100 obtenus à différents stades de végétation du Penicillium.

MILIEUX DE CULTURE.	SEME.	AU DEBUT DE LA SPORULATION.				EN PLEINE SPORU- LATION.				AU MOMENT DE LA DIS- PARITION DE L'ACIDE.				APRES LA SPORULATION.			
		Poids d'acide utilisé. (gr.)		Rende- ment.	Durée (jours)	Poids d'acide utilisé. (gr.)		Rende- ment.	Durée (jours)	Poids d'acide utilisé. (gr.)		Rende- ment.	Durée (jours)	Poids d'acide utilisé. (gr.)		Rende- ment.	Durée (jours)
		Poids sec. (gr.)	Poids d'acide utilisé. (gr.)			Poids sec. (gr.)	Poids d'acide utilisé. (gr.)			Poids sec. (gr.)	Poids d'acide utilisé. (gr.)			Poids sec. (gr.)	Poids d'acide utilisé. (gr.)		
Acide malique	1	0,509	2,59	19,7	12	0,278	2,68	10,4	24	0,422	2,68	15,7	31	0,244	2,68	9	31
	2	0,793	3,58	22,8	12	0,822	5,30	45,5	20	0,719	5,36	43,4	37	0,512	5,36	9,6	37
Acide tartrique	1	0,300	2,23	43,2	10	0,263	3	8,8	20	0,293	3	10	41	0,177	3	5,9	41
	2	0,405	2,92	43,9	10	0,434	6	7,2	32	0,582	6	9,7	41	0,429	6	7,2	41
Acide succinique	1	0,634	2,24	28,3	9	0,389	2,36	16,5	20	0,497	2,36	21	41	0,294	2,36	12,5	41
	2	0,778	2,77	28,1	11	0,854	4,60	18,6	26	0,724	4,72	15,3	37	0,602	4,72	12,8	37
Acide citrique	1	0,514	2,63	19,4	10	0,239	2,80	8,9	37	0,379	2,80	13,5	44	0,218	2,80	7,8	44
	2	0,748	3,80	19,7	12	0,761	5,33	13,6	24	0,721	5,60	12,9	41	0,683	5,60	12,2	41
Glucose	1	0,799	2,63	30,4	11	0,454	2,64	17,2	20	0,760	2,64	28,1	37	0,255	2,64	9,7	37
	2	1,37	4,83	28,4	11	1,003	5,28	19	21	1,187	5,28	22,5	28	0,714	5,28	13,5	28

Les concentrations de ces composés ternaires sont celles indiquées dans la colonne « Poids d'acide utilisé » pour le stade où tout l'acide est brûlé.

L'inspection de ce tableau montre nettement qu'une fois seulement le poids sec a été maximum au moment de la disparition de l'acide qui est l'acide tartrique, médiocre aliment et trois fois seulement en pleine sporulation.

Partout ailleurs, ce maximum a été atteint au début de la sporulation ainsi que pour tous les rendements. Le développement s'est effectué lentement, ce qui a entraîné de longs espaces de temps entre les stades fixés pour les prélèvements mycéliens. Aussi ai-je pensé qu'il était utile d'étudier de plus près les progrès de cette végétation, afin de voir, surtout, ce qu'il se passe pendant les périodes des neuf ou douze jours nécessaires pour aboutir à la sporulation.

Néanmoins, on peut conclure de ces résultats que les poids secs et les rendements maxima, dans ces conditions expérimentales, se produisent, en général, au début de la sporulation et ne coïncident pas avec le moment où la quantité d'acide organique consommé est elle-même maxima.

2° *A des intervalles de temps courts et de plus en plus éloignés de l'ensemencement.* — Les expériences qui font l'objet du tableau III ont été conduites dans des matras et à la température de 26°.

L'ancienneté des cultures prélevées pour déterminer la quantité d'acide organique utilisé, le rendement p. 100 et le poids sec mycélien, est indiquée en tête de chaque colonne du tableau qui suit.

Comme les cultures en milieu glucosé se développaient beaucoup plus vite que celles des milieux acides, j'ai dû faire une récolte mycélienne au bout de neuf jours, époque à laquelle la sporulation commençait à se produire. J'ai ainsi obtenu un poids sec qui constitue le maximum de tous ceux relatifs à ce milieu.

J'ai omis d'expliquer que les chiffres imprimés en caractères gras dans le tableau précédent comme dans tous ceux qui suivent, fixent la valeur maxima trouvée pour chaque phénomène considéré et qui est la plus intéressante.

TABLEAU III.
Poids secs et Rendements p. 100 des cultures de *Penicillium* à divers moments du développement.
(L'acide utilisé et les poids secs sont exprimés en grammes.)

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION p. 100. (grammes.)	DURÉE DES CULTURES.											
		4 JOURS.			7 JOURS.			11 JOURS.			14 JOURS.		
		Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids s. c.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.
Ac. malique...	2,68	0,838	0,482	21,7	1,68	0,332	19,8	2,38	0 455	17,7	2,61	0,379	14,5
Ac. tartrique...	3	0,638	0,076	11,9	1,43	0,167	13,4	2,35	0 281	11	2,78	0,273	9,9
Ac. succinique.	2,36	1,30	0,263	20	1,70	0,407	23,9	2,32	0 597	27,4	2,30	0,467	20,3
Ac. citrique...	2,80	1,03	0,232	22,4	2,09	0,409	19,5	2,70	0 450	16,6	2,73	0,357	13,1
Glucose (1)....	2,64	2,02	0,719	35,6	2,36	0 820	34,8	2,64	0 730	27,3	2,64	0,613	23,2
		20 JOURS.			25 JOURS.								
		Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.	Acide utilisé.	Poids sec.	Rendement.
		2,68	0,363	13,6	2,68	0,363	13,6	2,68	0,363	13,6	2,68	0,363	13,6
		0,200	0,200	6,7	0,200	0,200	6,7	0,200	0,200	6,7	0,200	0,200	6,7
		2,80	0,254	9,1	2,80	0,254	9,1	2,80	0,254	9,1	2,80	0,254	9,1
		2,64	0,524	20	2,64	0,524	20	2,64	0,524	20	2,64	0,524	20

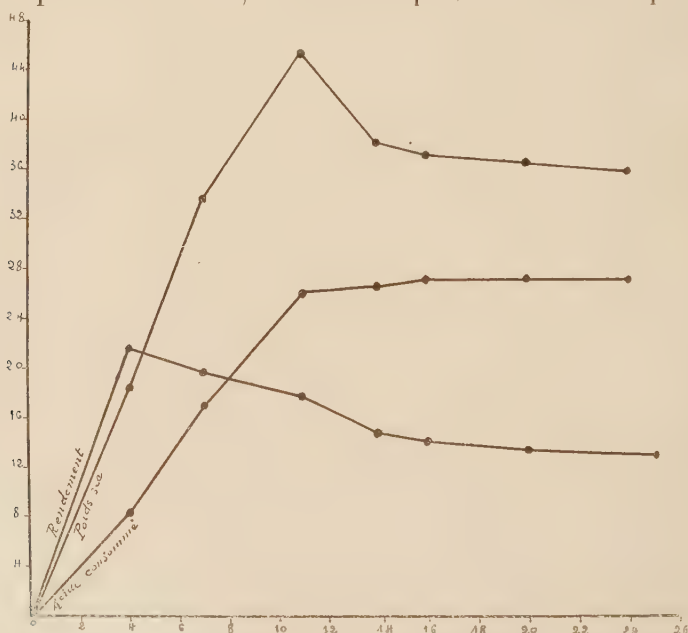
(1) Le milieu glucosé a fourni le maximum de poids secs au neuvième jour, 0,873 avec un rendement égal à 34,4 et la quantité de glucose consommé était de 2,856 la sporulation commençait à se produire.

Vers le onzième jour, les mycéliums des milieux acides étaient légèrement verts et celui du milieu glucosé, au neuvième.

Les poids secs maxima coïncident, ici encore, avec le début de la sporulation qui, elle-même, précède un peu l'assimilation totale des composés carbonés. Cette dernière particularité a été signalée pour l'*Aspergillus niger*, en présence du glucose, par Fernbach. Quant au rendement le plus élevé d'une culture, sauf pour l'acide succinique, il a lieu dans les premiers jours du développement du Champignon : du quatrième au septième jour.

Le classement des acides organiques d'après leur action favorable décroissante, en se basant sur les poids secs, qu'il se fasse au moment où ces poids sont maxima ou bien à l'époque où tous les aliments sont complètement utilisés, est absolument le même et semblable à celui déjà donné. Par conséquent, si les valeurs absolues des poids secs obtenus avec un acide, et à ces deux stades, sont très différents, ainsi d'ailleurs que le rendement, ces valeurs, dis-je, gardent toujours, vis-à-vis de celles des cultures avec les autres acides, les mêmes rapports.

Voici pour l'un d'eux, l'acide malique, des courbes qui ren-



Courbes 1. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide malique. (Le développement du *Penicillium* s'est effectué lentement.)

dent bien compte de la dissociation, dans le temps, des maxima des phénomènes dont il est question (rendement, poids sec et acide consommé), qui s'effectue dans le cours d'un développement mycélien moyennement lent.

La durée de chaque culture, exprimée en jours, est portée en abscisses. En ordonnées sont représentés les poids d'acide utilisé, en décigrammes ; les poids secs, en centigrammes et les rendements p. 100, en unités.

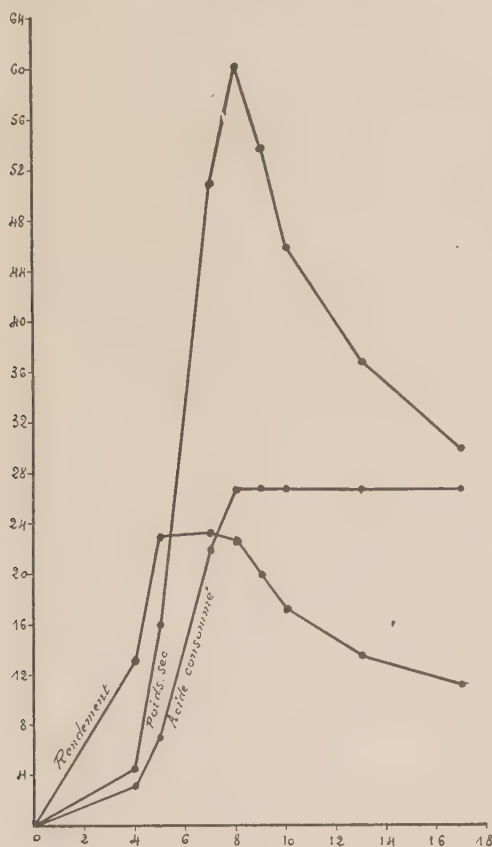
Je vais encore exposer les résultats trouvés avec des cultures faites dans des boîtes de Roux, à la température de 20-22°. Ces cultures m'ont servi à doser également, à chaque prélèvement de mycélium, l'ammoniaque restant et les acidités fixe et volatile dont je parlerai dans les autres paragraphes.

Les cultures en milieux acides ont sporulé le septième jour et en milieu glucosé, vers le cinquième. Le développement s'est effectué beaucoup plus rapidement que dans les matras, en raison de la plus grande surface des liquides de culture et de la température optima. Aussi, pour la plupart des acides, le maximum du poids sec mycélien correspond-il avec leur complète utilisation et le début de la sporulation. Mais le rendement maximum reste toujours indépendant et précède les deux phénomènes précédents de quelques jours. Pour obtenir leur séparation qui, de toute façon, ne pourrait être aussi marquée que dans les expériences avec matras, il serait indispensable de récolter les mycéliums toutes les douze heures, entre le cinquième et septième jour.

On constate également que les rendements et les poids secs, partant d'une valeur quelconque, passent par un maximum vers le cinquième jour et diminuent ensuite pour arriver, au trentième jour, à des valeurs assez basses.

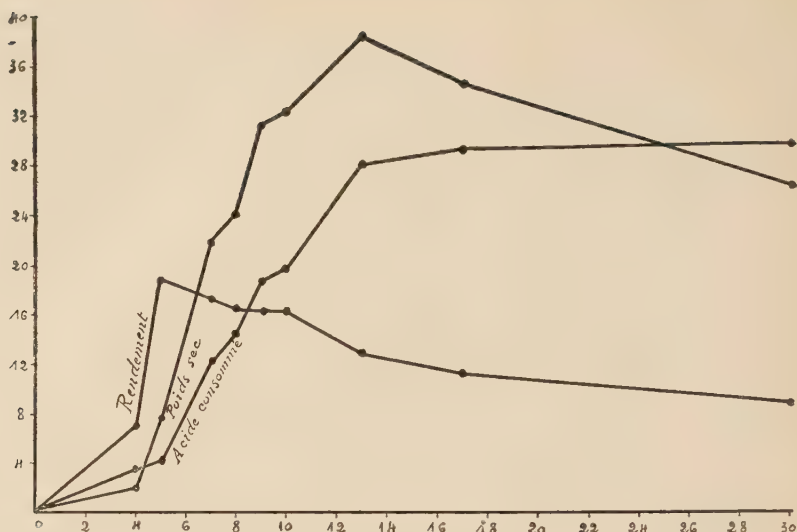
Les cultures, dont la durée était de deux jours, commençaient seulement à se développer dans les milieux renfermant les acides malique, tartrique, citrique, tandis que, dans les milieux constitués avec l'acide succinique et le glucose, elles étaient déjà appréciables. C'est pourquoi j'ai pu, pour ces dernières cultures, procéder à la détermination de leurs poids secs ainsi que de l'acide utilisé et du rendement p. 100 d'aliment consommé.

Voici d'ailleurs, pour chaque composé ternaire, les diverses courbes que les résultats du tableau IV permettent de construire et dont l'allure générale intéressante est bien semblable.

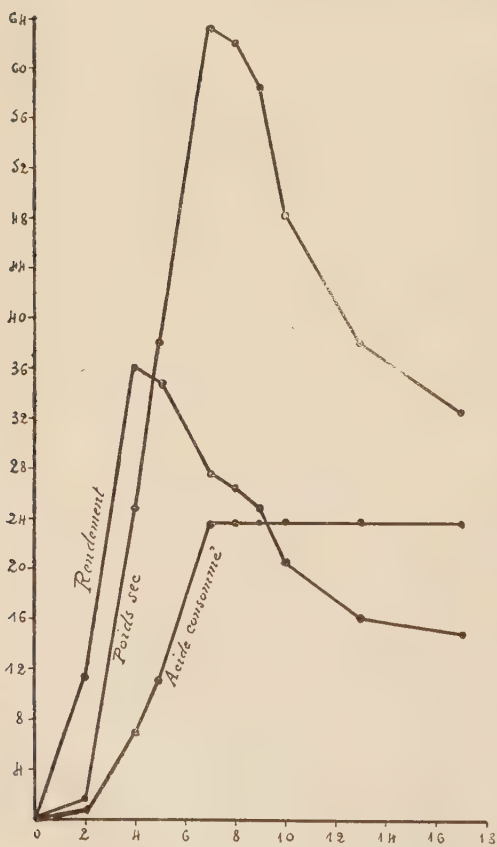


Courbes 2. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide malique.

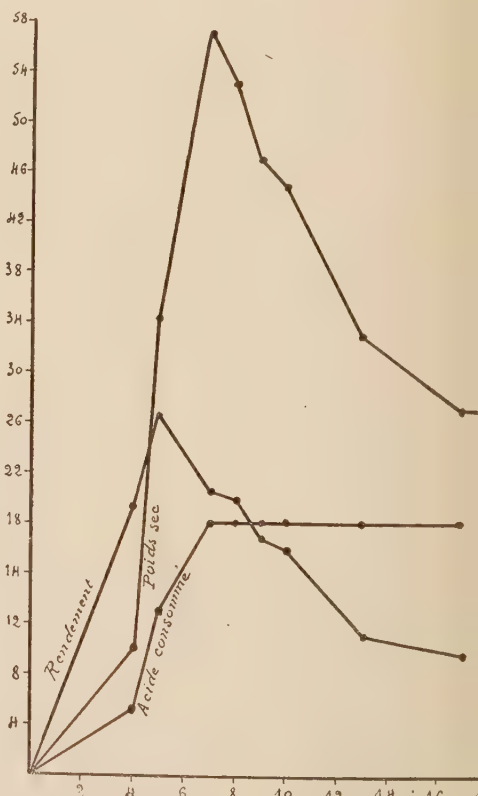
Les courbes 2 et 4 concernent les cultures produites par des milieux préparés avec la même dose d'acide malique, mais dont les vitesses de développement sont différentes. Aussi, leur comparaison montre-t-elle que dans le cas où le développement est assez lent (courbes 1), les points fixant les maxima du rendement, du poids sec et de l'acide utilisé sont, sur la ligne des abscisses, beaucoup plus espacés les uns des autres que dans le cas (courbes 2) où la végétation est plus accélérée.



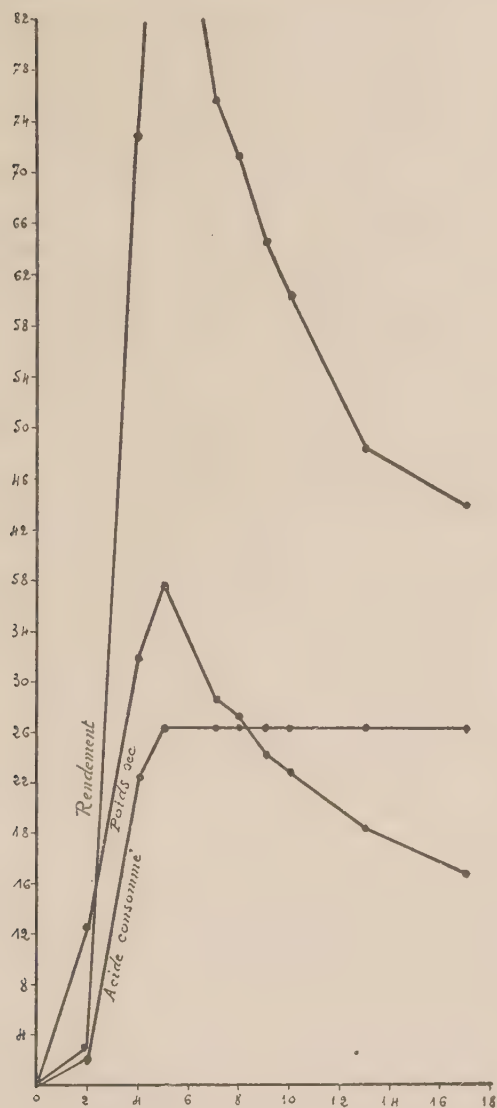
Courbes 3. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide tartrique.



Courbes 4. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide succinique.



Courbes 5. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide citrique.



Courbes 6. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation du glucose.

Conclusions du premier paragraphe. — Des recherches précédentes je puis conclure que :

1° Les doses croissantes d'acides organiques, fixées par les $1/100^e$, $1/50^e$, $1/25^e$ de leurs poids moléculaires p. 100, diminuent de plus en plus le rendement p. 100 du *Penicillium glaucum*, contrairement au glucose.

2° Ces acides peuvent se classer ainsi, d'après leur action nutritive décroissante : acides succinique, malique, citrique, tartrique et bien loin derrière, puisqu'il est mortel pour le Champignon, l'acide oxalique. C'est-à-dire que, comme cela se passe chez les Phanérogames, aux doses ainsi employées renfermant la même quantité de carbone et la même acidité, moins ces composés sont oxygénés plus ils sont alibiles. Autrement dit, ces corps ternaires, dans ces conditions, sont d'autant plus favorables à la nutrition du *Penicillium*, qu'ils contiennent moins de radicaux alcooliques et plus de radicaux carbures.

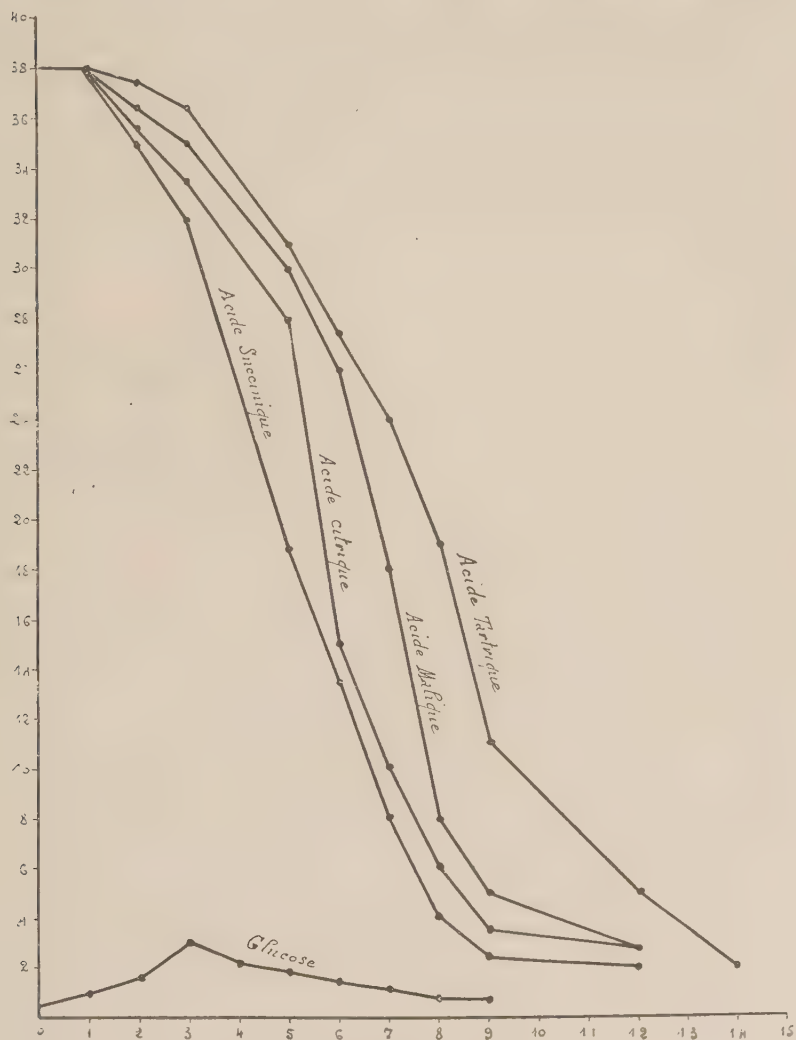
3° Les maxima du rendement et du poids sec ne coïncident pas avec la consommation totale de l'acide, comme on pourrait le croire *a priori* : le premier se produit quelques jours après l'ensemencement des milieux ; le second a lieu un peu avant cette utilisation complète, comme, en général, la sporulation du *Penicillium*. Et ceci est surtout nettement accentué avec les cultures dont le développement est assez lent.

4° Les rendements fournis par les divers acides organiques, qu'ils soient déterminés aussitôt après la disparition de ces aliments dans les milieux de culture ou bien au moment où les poids secs sont maxima, gardent entre eux les mêmes rapports, bien que leurs valeurs absolues, pour le même acide, soient très différentes.

§ II. — VARIATIONS DES ACIDITÉS TOTALE, FIXE ET VOLATILE DES MILIEUX DE CULTURE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DU *PENICILLIUM*.

1° *Variations des acidités totales.* — J'ai d'abord déterminé les variations de l'acidité totale du milieu d'une même culture, et pour tous les acides, pendant le développement du Champignon que j'ai suivi jusqu'à complète assimilation de l'aliment carboné. A cet effet, j'ai prélevé quotidiennement et aseptiquement un centimètre cube de chaque liquide dans lequel l'acidité totale a été dosée, après avoir, au préalable, chassé l'acide carbonique. Et, avec les chiffres ainsi obtenus pour chaque milieu de culture, j'ai construit les courbes suivantes qui permettent aisément de suivre l'utilisation des acides en rapport avec le temps et d'en comparer la vitesse.

En abscisses, sont portés les jours et, en ordonnées, l'acidité exprimée en $1/10^e$ de centimètre cube de solution décimale de soude, pour un centimètre cube de liquide prélevé.



Courbes 7. — Variations de l'acidité totale des milieux de culture renfermant les acides organiques et le glucose.

L'examen de ces courbes démontre que l'acide succinique est le plus vite assimilé et l'acide tartrique le moins. Or, le premier est le meilleur aliment carboné parmi les acides étudiés et le dernier, le moins favorable : il y a donc bien un

rapport direct entre la vitesse d'utilisation d'un aliment et sa valeur nutritive.

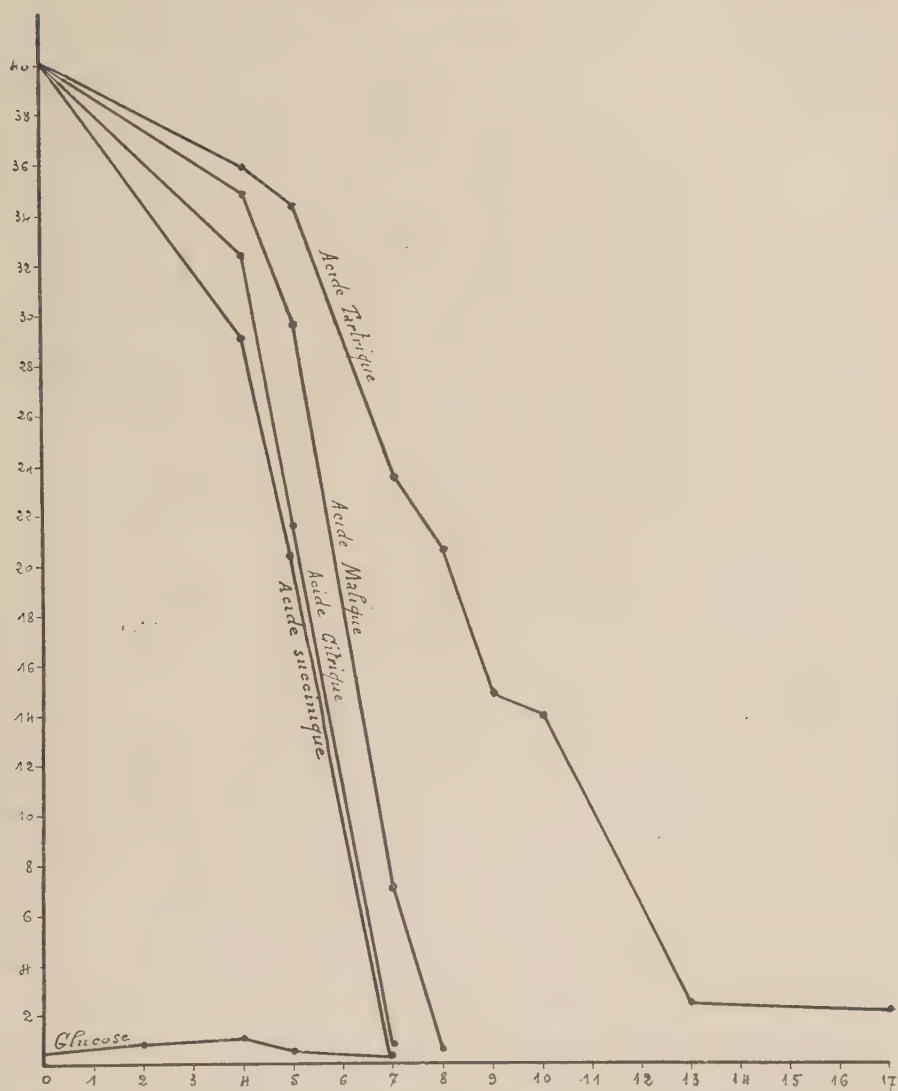
On peut encore remarquer que le milieu glucosé, comme cela a déjà été signalé par divers auteurs, présente un maximum d'acidité qui se produit tout au début de la culture.

Au contraire, dans les milieux acides, l'acidité totale baisse continuellement jusqu'à épuisement complet de ces corps. Ce fait tient simplement à ce que ces acides, très assimilables et offerts comme seul aliment carboné au *Penicillium*, sont brûlés dans de telles proportions que l'augmentation de l'acidité minérale, relativement infime, passe inaperçue; les courbes 9 et suivantes sont très démonstratives à cet égard.

2° *Variations des acidités fixe et volatile.* — On peut se demander si, en procédant comme je viens de le faire, l'utilisation des acides est bien rendue avec une exactitude suffisante. Pour vérifier ce point douteux, j'ai tracé de nouvelles courbes mais à l'aide des acidités fixes des milieux de culture, c'est-à-dire des acidités presque uniquement dues aux acides organiques et indiquées dans le tableau V.

En abscisses, sont toujours portés les jours et, en ordonnées, les acidités fixes exprimées en centimètres cubes de solution normale alcaline pour le milieu total (100 centimètres cubes).

La lecture de ces courbes permet de se rendre compte facilement de l'utilisation comparée des acides organiques par le Champignon. C'est ainsi que durant les quatre premiers jours du développement du mycélium, ces composés ne sont brûlés qu'en petites quantités. Du quatrième au cinquième jour, la teneur en acide tartrique des milieux continue à descendre lentement, mais celle des autres milieux, surtout citrique et succinique, diminue très rapidement. Du cinquième au septième, l'acide tartrique disparaît plus vite et les autres continuent à être aussi rapidement consommés : les acides succinique et citrique sont même complètement épuisés le septième jour. L'acide malique disparaît ensuite à son tour le huitième jour, et il ne reste plus que l'acide tartrique dont l'utilisation s'effectue de la même façon jusqu'au treizième jour. A partir de ce moment, les dernières traces sont brûlées en quatre jours.



Courbes 8. — Variations de l'acidité fixe des milieux de culture renfermant les acides organiques et le glucose.

Si l'on compare ces courbes avec les précédentes, on peut se rendre compte qu'elles sont, dans leur allure générale, absolument identiques.

Voici maintenant, condensées en un tableau, les acidités fixe et volatile des mêmes cultures pour lesquelles j'ai donné, dans le tableau IV, les poids secs et les rendements.

TABLEAU V.
Acidités fixe et volatile des milieux de culture du Penicillium pendant son développement.
 (Ces acidités sont exprimées en centimètres cubes de solution décimale alcaline.)

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION P. 100. (en grammes.)	DURÉE DES CULTURES.																			
		2 JOURS.	4 JOURS.	5 JOURS.	7 JOURS.	8 JOURS.	9 JOURS.	10 JOURS.	13 JOURS.	17 JOURS.	30 JOURS.										
		Acidités.		Acidités.		Acidités.		Acidités.		Acidités.		Acidités.									
		Fixe.	Volatile.	Fixe.	Volatile.	Fixe.	Volatile.	Fixe.	Volatile.	Fixe.	Volatile.	Fixe.	Volatile.								
Ac. malique ...	2,68	»	348	297	43	72	32	54	30,6	3,6	27	3,9	21,3	4,8	16,2	6	42,6	6,6	9	13,8	
Ac. tartrique...	3	»	360	42	345	18	237	19	20,8	20	150	23	144	26	25,8	27,6	42	49,8	9,6	10,2	
Ac. succinique.	2,36	»	291	42	215	49	0,4	31	3,9	29,7	4,2	27,2	4,5	23,7	4,8	15,9	6	43,8	6,6	10,2	
Ac. citrique....	2,80	»	325	11	216	18	0,6	31,2	4,8	28,2	4,8	24	4,8	22,2	5,4	16,7	6	42	7,8	7,8	
Glucose	2,64	7,5	40,8	20,4	3,6	16,8	2,4	7,8	2,4	6	3,6	4,8	3,6	0	3	0	2,2	0	»	»	

Je n'interprète pas, pour l'instant, tous ces résultats un peu confus par leur nombre, d'autant plus que les courbes que je tracerai plus loin, avec leur aide, permettront de le faire d'une façon claire et précise.

§ III. — VARIATIONS DE L'AMMONIAQUE RESTANT DANS LES MILIEUX DE CULTURE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DU *PENICILLIUM*.

Toujours pour les mêmes cultures dont il est question dans les tableaux IV et V, j'ai dosé les quantités d'ammoniaque que renfermaient leurs milieux, lors des prélèvements mycéliens.

TABLEAU VI.

Variations de la teneur en ammoniaque des milieux de culture de Penicillium pendant le cours de son développement.

(Les quantités d'ammoniaque sont exprimées en centimètres cubes de solution décimorale.)

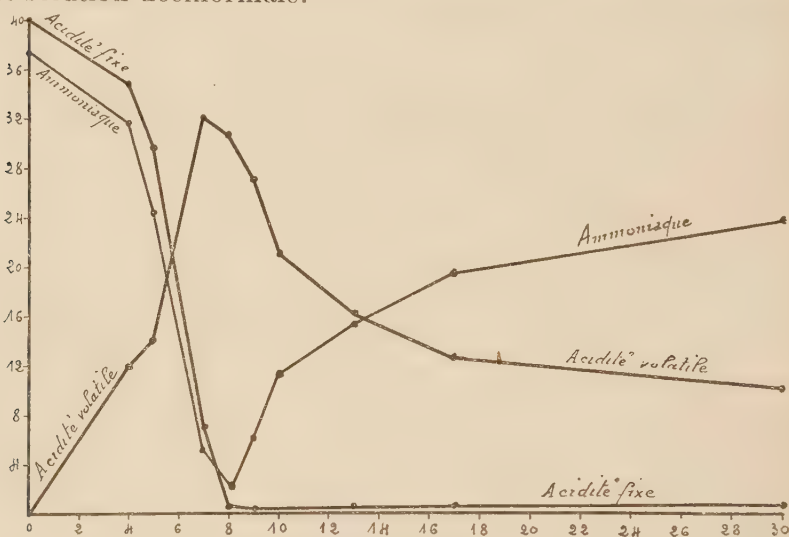
MILIEUX de culture.	Concentration p. 100 (en gr.)	DURÉE DES CULTURES. (En jours.)									
		2	4	5	7	8	9	10	13	17	30
Acide malique....	2,68	»	31,8	24,3	5,1	2,4	6,6	11,4	15,6	19,5	23,4
— tartrique...	3	»	34,5	28,5	22,8	22,2	19,2	18	15,2	19,5	24
— succinique..	2,36	»	23,4	13,2	0,6	3	3,3	10,2	17,1	19,2	22,8
— citrique....	2,80	»	28,2	7,8	2,4	6,6	9,6	12,6	18,6	21,6	24
Glucose.....	2,64	33	1,8	2,1	12,6	14,7	15,9	20,4	25,2	25,5	»

On voit nettement que, pour chaque aliment carboné, la teneur des liquides en ammoniaque, qui avant l'ensemencement correspondait à 37 centimètres cubes de solution décimorale acide ou alcaline, baisse rapidement avec le temps et arrive à un minimum. A ce moment (voir tableau IV), tout l'acide organique est consommé et le poids sec est à son maximum. Puis, cette teneur s'accroît lentement pour récupérer, en grande partie, ses pertes au bout de trente jours de culture et atteint, pour tous les acides, des valeurs égales, approximativement.

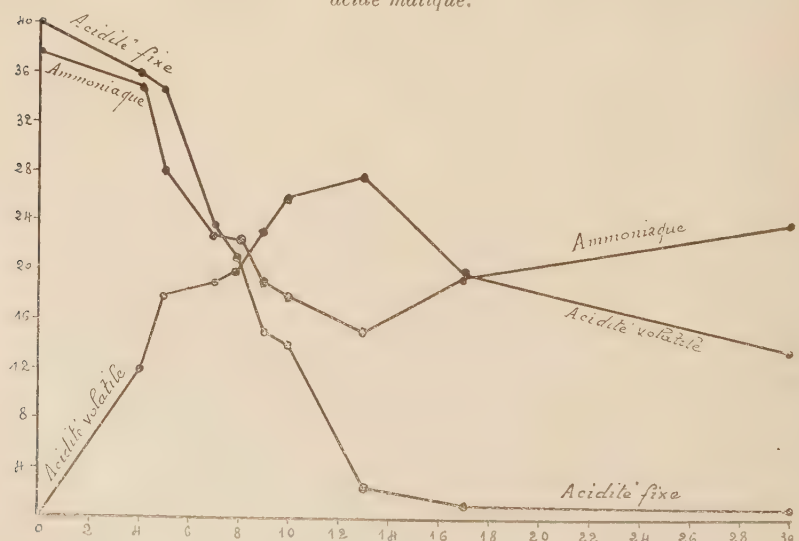
Avec les chiffres contenus dans les deux tableaux V et VI, j'ai construit, pour chaque composé carboné, les courbes suivantes, relatives aux variations des acidités fixe et volatile ainsi que

de l'ammoniaque pendant le cours du développement du Champignon.

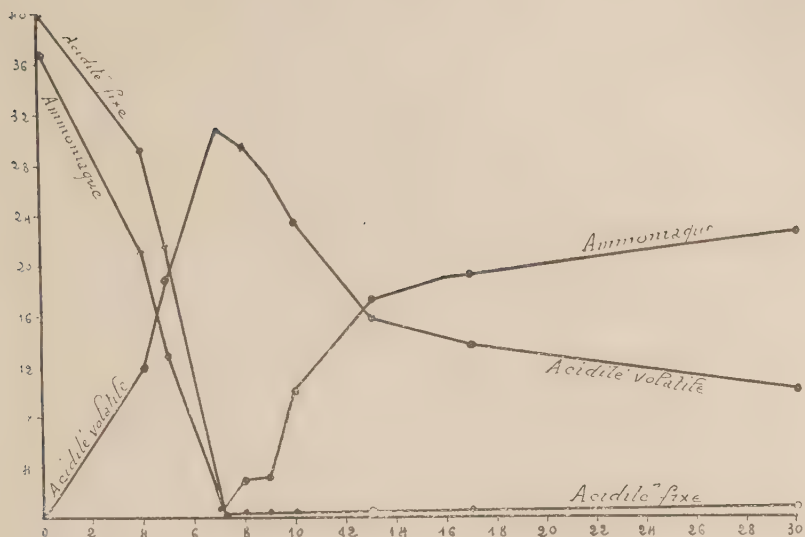
La durée des cultures, exprimée en jours, est portée en abscisses. En ordonnées, sont indiquées : 1° les acidités fixes, en centimètres cubes de solution normale alcaline ; 2° les acidités volatiles, et 3° les teneurs en ammoniaque, en centimètres cubes de solution décimormale.



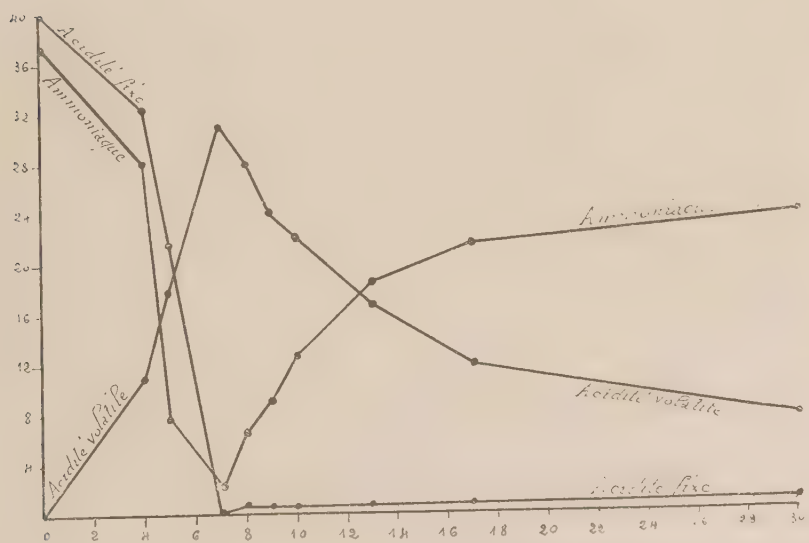
Courbes 9. — Variations de l'ammoniaque, des acidités fixe et volatile du milieu acide malique.



Courbes 10. — Variations de l'ammoniaque, des acidités fixe et volatile du milieu acide tartrique.



Courbes 11. — Variations de l'ammoniaque, des acidités fixe et volatile du milieu acide succinique.

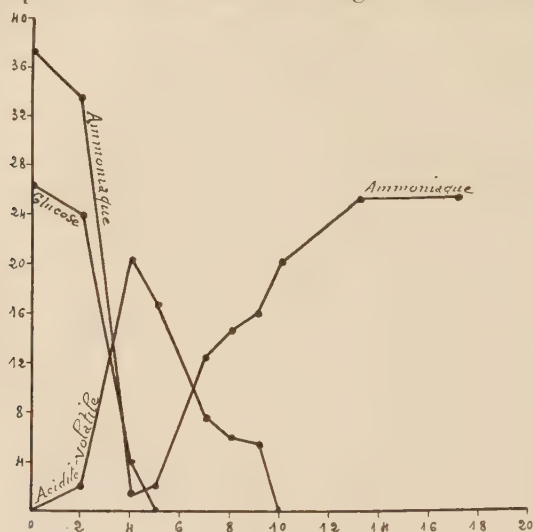


Courbes 12. — Variations de l'ammoniaque, des acidités fixe et volatile du milieu acide citrique.

Ces courbes, d'une analogie frappante, montrent clairement que :

1° Les quantités d'ammoniaque et d'acide organique ou de glucose restant dans les milieux de culture diminuent

toujours proportionnellement et atteignent leur minimum au



Courbes 13. — Variations de l'ammoniaque, de l'acidité volatile et du glucose du milieu glucosé.

même moment, pour ainsi dire, qui est ici celui où le poids sec est maximum.

2° Au fur et à mesure que la teneur en ammoniaque baisse, celle de l'acide nitrique (acidité volatile) augmente. Et dès que le premier arrive à son minimum, le second parvient à son maximum.

3° A partir de cet instant précis, la teneur en ammoniaque monte et celle de l'acide nitrique baisse, tout d'abord assez rapidement, puis plus lentement. Ces oscillations peuvent se traduire ainsi : le *Penicillium*, pour édifier sa masse protoplasmique jusqu'à son poids maximum, assimile la presque totalité de l'ammoniaque du nitrate ammoniacal (1) contenu normalement dans le liquide de Raulin, ce qui met en liberté une proportion équivalente, chimiquement, d'acide nitrique. Une partie de cet acide est même utilisée.

Maintenant, pour interpréter la seconde partie de ces courbes, deux hypothèses sont possibles : ou bien l'acide nitrique est ensuite, à son tour, assimilé, entraînant une diminution de

(1) Et certainement aussi une partie de celui des autres sels ammoniacaux qui se trouvent dans le Raulin à de si petites doses.

l'acidité du milieu ; ou bien l'ammoniaque que le *Penicillium* fabrique et exosome indiscutablement dans son liquide de culture sert à le neutraliser. Pour être exactement fixé sur ces deux points, il est de toute nécessité de procéder à des dosages, très délicats, d'acide nitrique, ce que je tenterai de faire ultérieurement. Néanmoins, d'après la régularité, mais en sens contraires, des tracés relatifs à ces deux corps minéraux, je croirais volontiers à la réalité de la seconde hypothèse. Et d'autant plus que le Champignon, qui a sporulé et qui diminue de poids sec, n'a plus besoin d'azote : au contraire même, vivant par autophagie, il en désassimile à l'état d'ammoniaque.

Quoi qu'il en soit, ces résultats prouvent bien que dans toute culture de *Penicillium* une certaine quantité d'acide nitrique, qui peut atteindre le poids de 0gr,20 dans mes essais, est mise en liberté et provoque, en presque totalité, l'augmentation de l'acidité totale constatée, et constatable seulement ici, dans le milieu glucosé. Ce fait est bien général, car il est intimement lié à la nécessité absolue d'azote, ammoniacal de préférence, du Végétal, pour sa nutrition. Il constitue, en quelque sorte, une preuve biologique de l'existence et du rôle de cet acide minéral, dont j'avais déjà décelé la présence par ses propriétés chimiques.

Il est bien certain, en raison de son origine d'ordre physiologique, que l'on pourrait caractériser cet acide nitrique libre dans les milieux de culture de bien d'autres Champignons, à la condition qu'ils puisent de préférence leur azote à l'ammoniaque ; mais il serait peut-être utile de simplifier la composition de ces milieux.

CHAPITRE III

NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES SELS ACIDES ORGANIQUES

Renseigné maintenant sur l'action nutritive des acides organiques libres, selon le plan général adopté, je vais passer en revue celle de ses sels acides de sodium. Ceux-ci ont été préparés, je le répète, par neutralisation convenable des mêmes quantités d'acides expérimentés dans le chapitre précédent. Le sodium a été choisi, de préférence aux autres métaux alcalins,

parce qu'il ne joue, vis-à-vis du Végétal, aucun rôle alibile ni toxique à de semblables doses et que, surtout aussi, ses combinaisons organiques sont toutes très solubles.

Les concentrations de ces sels seront exprimées en poids d'acide qu'ils renferment, et, j'indiquerai de plus, pour chacun d'eux, la quantité d'acide qui s'y trouve à l'état libre.

§. I. — POIDS SECS ET RENDEMENTS p. 100 D'ALIMENT CONSOMMÉ, DES CULTURES DE *PENICILLIUM* PENDANT LE COURS DE SON DÉVELOPPEMENT.

Ces déterminations ont été faites au moyen de cultures développées dans des boîtes de Roux, à la température de 20-22°.

La mise en pages des lignes précédentes a entraîné un espace vide d'impression que je suis heureux d'utiliser pour réparer, dans la mesure du possible, un oubli. J'ai, en effet, omis de faire connaître les poids secs maxima et rendements obtenus avec des cultures effectuées en même temps que celles dont il est question dans le tableau VII, mais en présence de doses d'acides organiques égales à celles que renferment les sels acides à l'état *libre*, la seule partie nutritive pour le *Penicillium*. Ces poids secs et rendements sont *très inférieurs* à ceux fournis par les milieux « sels acides » correspondants. Mais, comme l'acide nitrique, mis en liberté, déplace une quantité d'acide du sel organique s'élevant à 0^{gr},25 environ, on peut m'objecter que les résultats favorables ainsi obtenus avec les milieux « sels acides » sont uniquement dus à l'assimilation, par le Champignon, de cet excédent d'aliment.

Pour répondre à cette objection, j'ai fait, concurremment avec celles du tableau VII, des cultures dans des milieux « acides » contenant 0^{gr},30, environ, d'acide de plus que les milieux précédents. Dans ces conditions, voici les chiffres trouvés :

MILIEUX	DOSES P. 100	POIDS SECS MAXIMA	RENDEMENT P. 100
Acide malique.....	1 gr. 60	0 gr. 370	23,1
— tartrique.....	1 gr. 80	0 gr. 238	13,3
— succinique.....	1 gr. 50	0 gr. 454	30,3
— citrique.....	1 gr. 80	0 gr. 360	20

TABLEAU VII.

Poids secs et rendements p. 100 des cultures de *Penicillium* pendant le cours de son développement.

(Les poids d'acide utilisé et les poids secs sont exprimés en grammes.)

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide, p. 100 (en grammes).	TENEUR en acide libre des sels organiques (en grammes).	DURÉE DES CULTURES.																	
			3 JOURS.			6 JOURS.			7 JOURS.			11 JOURS.			20 JOURS.			30 JOURS.		
			De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.	De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.	De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.	De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.	De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.	De l'acide utilisé.	Sec.	RENDEMENT.
Malate monoso- dique.....	2,68	1,34	0,23	0,042	18,3	1,42	0,397	27,9	1,60	0,443	27,7	1,64	0,323	19,6	1,61	0,240	11,6	1,64	0,214	13
Tartrate —	3	1,50	0,24	0,040	16,6	1,79	0,385	24,5	1,86	0,380	20,5	1,86	0,233	12,5	1,86	0,161	8,6	1,86	0,150	8,1
Succinate —	2,36	1,18	0,15	0,028	18,7	1,43	0,533	37,3	1,46	0,497	34	1,48	0,360	24,2	1,48	0,264	17,8	1,48	0,244	16,5
Citrate —	2,80	1,87	0,26	0,053	20,4	1,88	0,523	27,8	2,43	0,590	24,3	2,45	0,476	19,4	2,45	0,318	12,9	2,45	0,315	12,8
Citrate bisod....	2,80	0,93	0,20	0,066	33	0,80	0,158	19,8	0,87	0,162	18,6	0,97	0,135	14	0,97	0,100	10,3	0,97	0,080	8,3
Glucose.....	2,64	»	1,39	0,530	38,1	2,64	0,901	34,1	2,64	0,88	33,3	2,64	0,698	26,4	2,64	0,502	19	2,64	0,402	15,2

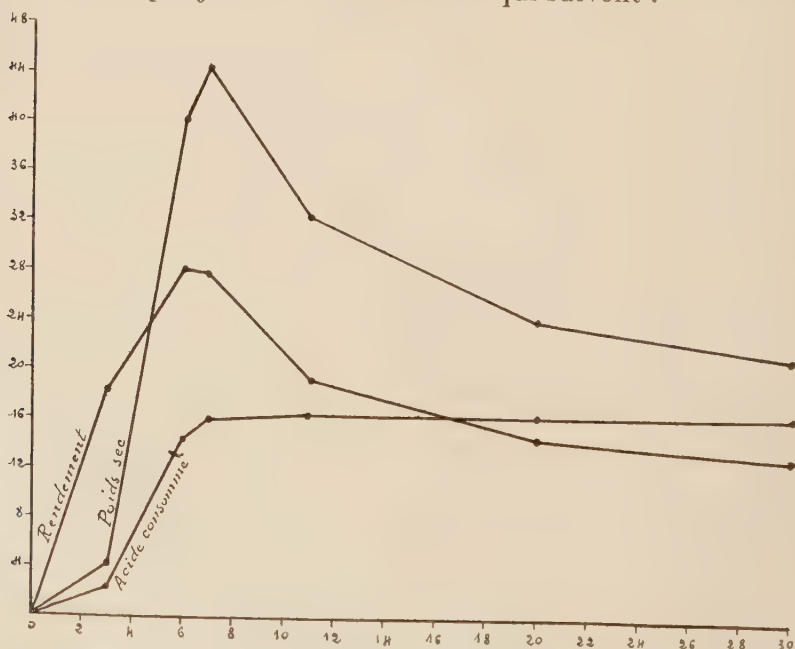
Les milieux de culture renfermant le tartrate et les citrates de sodium n'ont pas sporulé. Et, dans ces derniers, les seuls d'ailleurs, j'ai décelé la présence d'acide oxalique à partir du onzième jour, dans les proportions suivantes :

	11 ^e jour.	20 ^e jour.	30 ^e jour.
Citrate monosodique....	Traces.	37 millig. 8	44 millig. 1
Citrate bisodique.....	Traces.	30 millig. 2	38 millig. 7

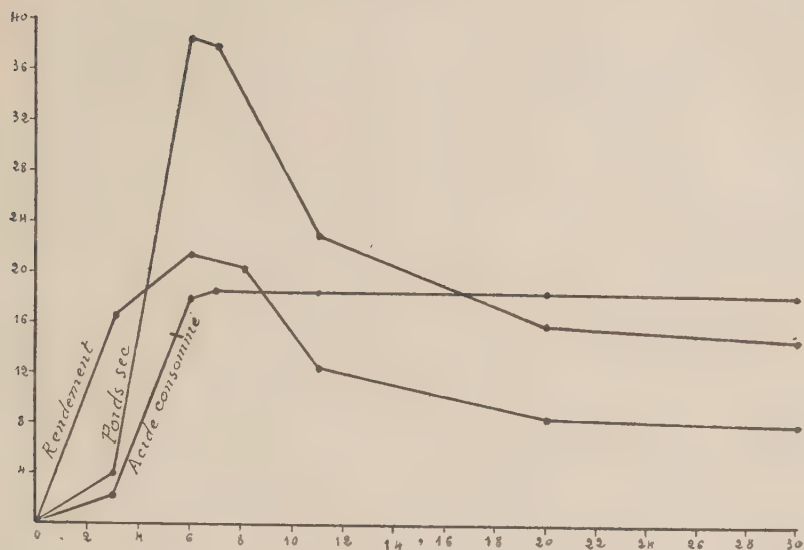
dont le but est, vraisemblablement, de neutraliser le mieux possible l'alcalinité du milieu. Dans les autres liquides, et toujours pour la même raison, il s'est formé des carbonates. Pourquoi cette différence dans les moyens employés par le *Penicillium* pour se défendre contre l'alcalinité de son milieu ? Il serait intéressant d'en rechercher la cause.

Le mycélium développé en présence des malate et succinate, ainsi que du glucose, a sporulé vers le sixième ou septième jour.

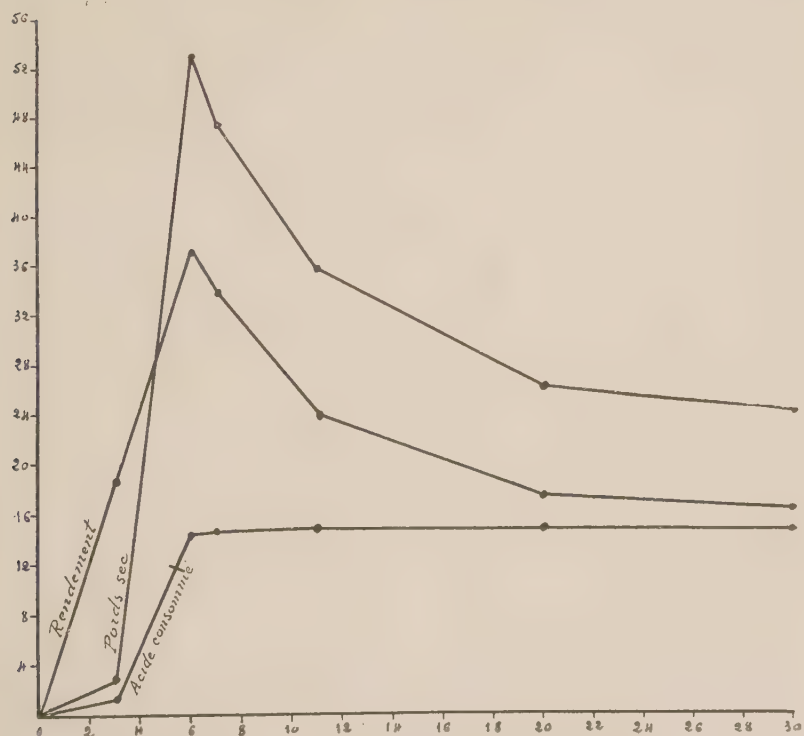
Si, avec les données du tableau précédent concernant le poids sec, le rendement et la quantité totale d'acide consommé, je construis, pour chaque acide, la courbe de leurs variations dans le temps, j'obtiendrai les tracés qui suivent :



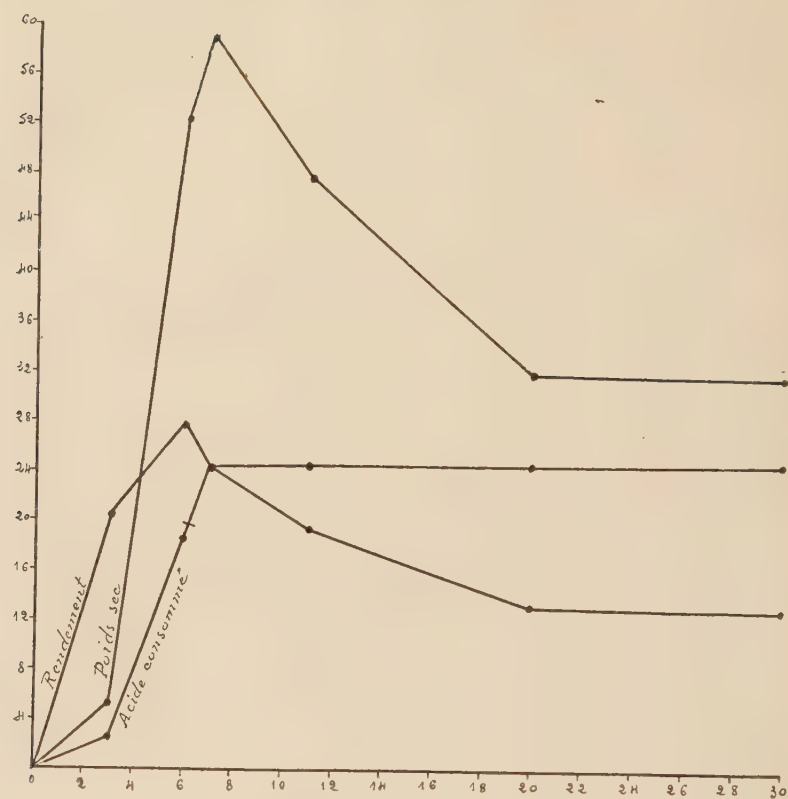
Courbes 14. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide en milieu malate monosodique.



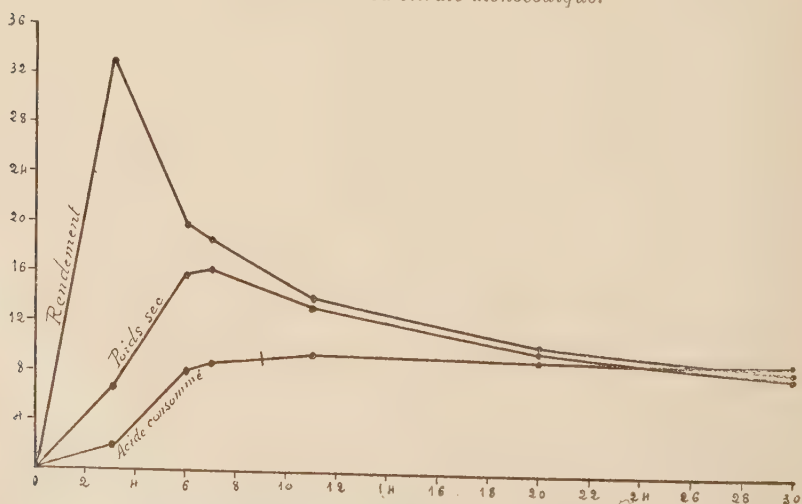
Courbes 15. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide en milieu *tartrate monosodique*.



Courbes 16. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide en milieu *succinate monosodique*.



Courbes 17. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide en milieu *citrate monosodique*.



Courbes 18. — Variations du poids sec mycélien, du rendement et de la consommation de l'acide en milieu *citrate bisodique*.

On remarque que ces courbes, pour chacun des sels acides, sont pour ainsi dire identiques et permettent de tirer les conclusions suivantes :

1^o Le rendement et le poids sec prennent leur maximum un peu avant celui de la quantité d'acide consommé.

2^o Les courbes les plus intéressantes sont certainement celles relatives à la consommation des acides et que j'ai barrées à l'endroit où elles atteignent le poids d'acide libre que renferment les sels ou les milieux de culture. Le onzième jour, en effet, elles parviennent à leur hauteur maxima et ensuite, elles gardent toutes une horizontalité parfaite : le Champignon n'utilise donc plus d'acide. Ce point correspond à peu près avec la teneur en acide libre des liquides de culture, et, si on tient compte de la quantité d'acide organique que met en liberté l'acide nitrique produit, on peut affirmer que la portion libre de l'acide organique est seule assimilée. Le *Penicillium* ne peut donc tirer parti de l'acide combiné avec le sodium.

II. — VARIATION DE L'ACIDITÉ APPARENTE, DE LA TENEUR EN ACIDE ORGANIQUE ET EN AMMONIAQUE DES MILIEUX DE CULTURE PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DU *PENICILLIUM*.

Je vais d'abord présenter, en un tableau, les résultats concernant les variations de l'acidité apparente et de la teneur en acide organique des cultures précédentes.

TABLEAU VIII.

Variations des acidités apparentes et des quantités totales d'acide organique existant dans les milieux de culture pendant le développement du Penicillium.

(L'acidité apparente et la teneur en acide sont exprimées en centim. cubes de solution décimale de soude.)

MILIEUX de culture.	Concentration en acide p. 100 (en grammes).	DURÉE DES CULTURES.											
		3 jours.		6 jours.		7 jours.		11 jours.		20 jours.		30 jours.	
		Acidité apparente.	Quantité d'acide.	Acidité apparente.	Quantité d'acide.	Acidité apparente.	Quantité d'acide.	Acidité apparente.	Quantité d'acide.	Acidité apparente.	Quantité d'acide.	Acidité apparente.	Quantité d'acide.
Malate monosodi. .	2,68	186	381	22,2	189	0,7	162	0	156	0	156	0	156
Tartrate — .	3	180	369	1,8	162	0,7	153	0	152	0	152	0	152
Succinate — .	2,36	177	375	1,2	157	0	152	0	150	0	150	0	150
Citrate — .	2,80	237	375	34,8	132	0	54	0	50	0	50	0	50
Citrate bisodique .	2,80	39	372	0	300	0	276	0	276	0	276	0	276

Vers le onzième jour, les acidités libres ou apparentes sont nulles ; bien mieux, les milieux sont nettement alcalins et les quantités d'acide organique combiné qu'ils renferment restent invariables.

Voici maintenant les chiffres trouvés pour l'ammoniaque restant dans les liquides de culture.

TABLEAU IX.

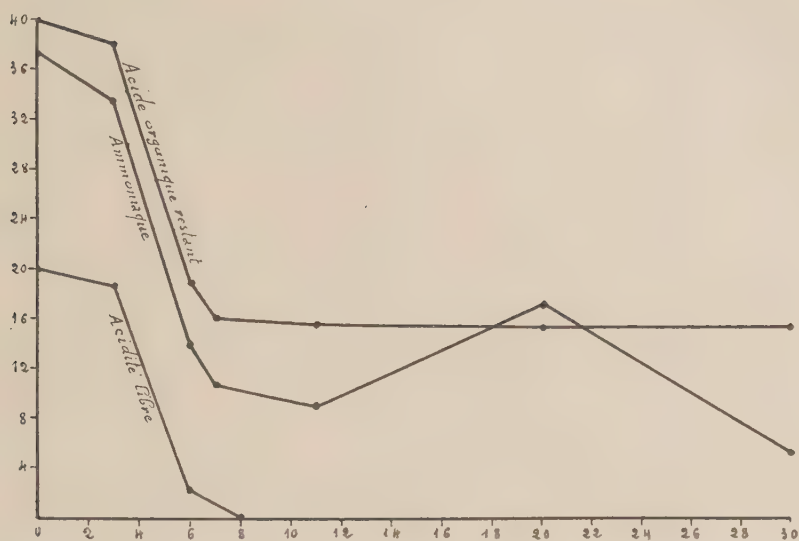
Variations de la teneur en ammoniaque des milieux de culture pendant le développement du Penicillium.

MILIEUX DE CULTURE.	CONCENTRATION en acide, p. 100 (en grammes).	AMMONIAQUE exprimé en cent. cubes de solution décimale, existant dans les milieux dont les cultures ont une durée de :					
		3 jours.	6 jours.	7 jours.	11 jours.	20 jours.	30 jours.
Malate monosodique...	2,68	33,6	43,8	40,8	9	17,4	5,4
Tartrate — ...	3	33,6	40,5	40,8	19,8	19,2	16,8
Succinate — ...	2,36	30,6	5,4	5,4	5,4	14,4	7,8
Citrate — ...	2,80	31,2	6	4,2	2,4	12	4,2
Citrate bisodique.....	2,80	31,2	15,6	4,8	»	15,6	16,2

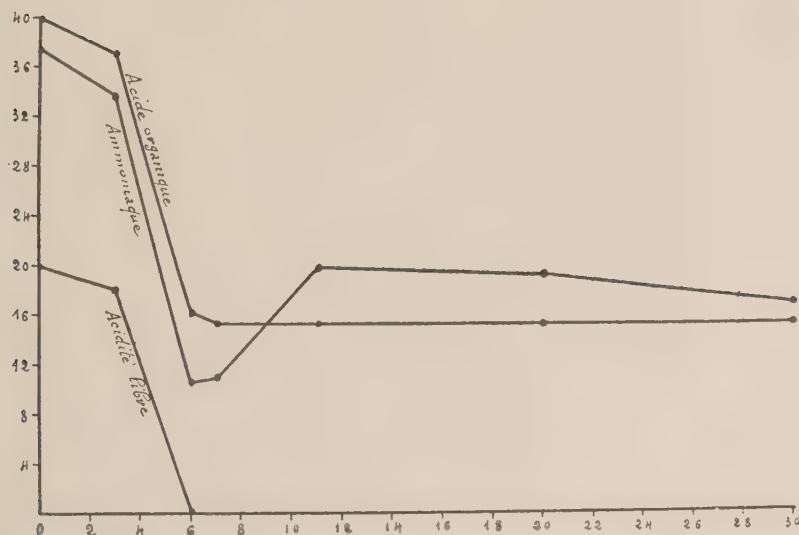
Si, avec les données des tableaux VIII et IX, je construis, pour chaque sel acide, les courbes relatives aux variations des phénomènes dont il y est question, j'obtiendrai les tracés suivants. Sur la ligne des abscisses sont portés les jours, sur celle des ordonnées l'acide organique total et l'acidité apparente (c'est-à-dire libre), en centimètres cubes de solution normale ; l'ammoniaque, en centimètres cubes de solution décimale.

La quantité d'acide organique que renferment, au début, tous les milieux de culture, correspond à 40 centimètres cubes de solution normale alcaline ou acide. Par conséquent, pour les sels dont l'acide est bibasique, tels que les malates, succinates, tartrates, la teneur en acide libre, toujours au début de la culture, est volumétriquement égale à 20 centimètres cubes de la même solution normale ; le citrate monosodique à 26^{cmc},7 et le citrate bisodique à 13^{cmc},3.

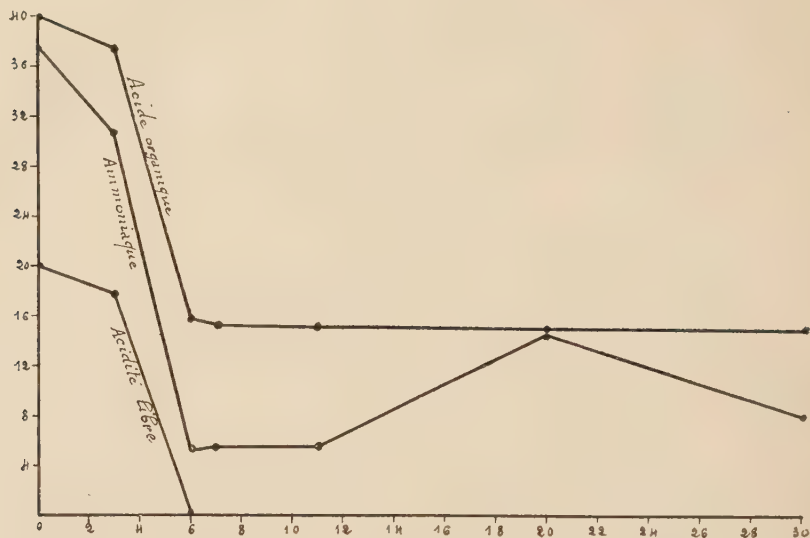
Quant à la teneur en ammoniaque des mêmes milieux de culture, elle est équivalente à celle de 37^{cmc},5 de solution décimale de ce composé.



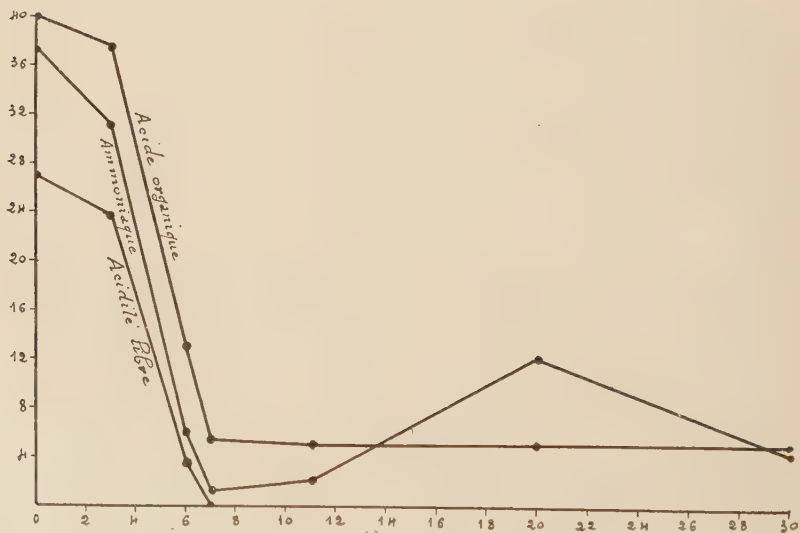
Courbes 19. — Variations de l'acidité libre, de l'acide organique et de l'ammoniaque en milieu *malate monosodique*.



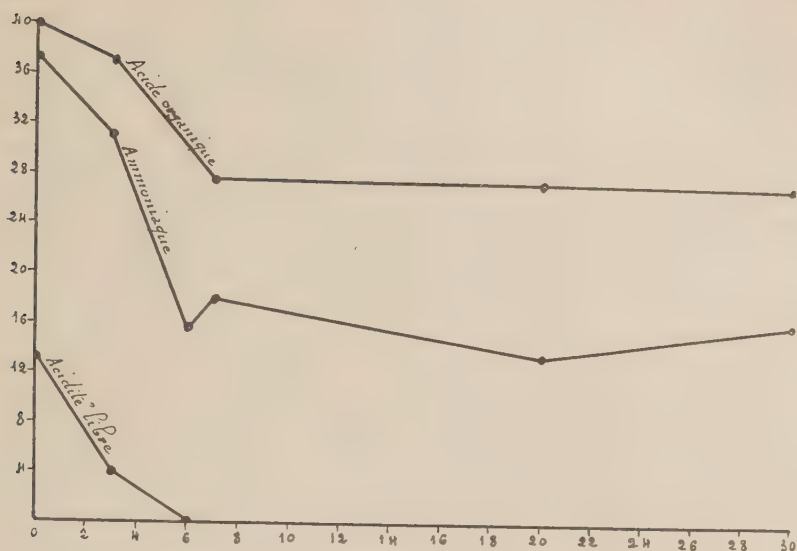
Courbes 20. — Variations de l'acidité libre, de l'acide organique et de l'ammoniaque en milieu *tartrate monosodique*.



Courbes 21. — Variations de l'acidité libre, de l'acide organique et de l'ammoniaque en milieu succinate monosodique.



Courbes 22. — Variations de l'acidité libre, de l'acide organique et de l'ammoniaque en milieu citrate monosodique.



Courbes 23. — Variations de l'acidité libre, de l'acide organique et de l'ammoniaque en milieu *citrate bisodique*.

Ces courbes, dont l'allure générale pour chaque acide est bien semblable, montrent clairement que :

L'acidité apparente, l'ammoniaque et l'acide organique total restant dans chaque milieu diminuent ensemble avec une remarquable proportionnalité.

Vers le septième ou onzième jour, au plus tard, l'acide organique n'est plus assimilé, le milieu ne renferme plus d'acidité libre, c'est-à-dire d'acide organique libre et l'ammoniaque atteint son minimum. Ces moments coïncident avec ceux où les rendements, les poids secs et l'utilisation des acides sont maxima. En somme, ces courbes sont, à ce point de vue, les mêmes que celles des acides libres, ce qui ne peut surprendre, puisque l'action de ces sels doit être uniquement attribuée à l'acide libre qu'ils contiennent.

L'ammoniaque seul augmente ensuite et passe par un maximum vers le vingtième jour, puis diminue. Ce maximum rencontré chez tous les sels acides et si tardivement dans le cours du développement du *Penicillium*, est bien difficile à expliquer : peut-être est-il produit par l'alcalinité sodique du milieu, qui met en liberté de l'ammoniaque dont la volatilisation s'effectuerait peu à peu.

§ III. — NUTRITION CARBONÉE A L'AIDE DES SELS NEUTRES ORGANIQUES

Ces milieux ont, fait assez surprenant, empêché toute germination des spores de *Penicillium*. Ce Champignon a pourtant à sa disposition toujours la même quantité de carbone, mais il ne peut libérer l'acide organique de sa combinaison sodique pour se l'assimiler. Ces expériences confirment bien les résultats obtenus dans le chapitre précédent : on a vu, en effet, que l'acide libre des sels acides était seul utilisé.

Le *Penicillium* adulte ne parvient pas non plus à vivre dans de tels milieux, car les quelques tubes mycéliens qui accompagnent les spores d'ensemencement, examinés plus tard au microscope, offrent, pour la plupart, un aspect moniliforme très accentuée qui ferait croire à un observateur non prévenu, qu'il se trouve en présence de cellules de Levures isolées et en chaîne. On constate ainsi tous les états intermédiaires entre le mycélium type et la Levure la plus parfaite.

Conclusions générales de la troisième partie.

De toutes ces recherches sur le *Penicillium glaucum*, je puis conclure que :

1° Les acides malique, tartrique, succinique et citrique sont parfaitement assimilés, ce que l'on savait déjà. Pourtant, d'après Duclaux, l'acide malique devait être considéré plutôt comme un antiseptique pour ce même Champignon. L'acide oxalique, par contre, est très toxique.

2° Les doses croissantes de ces composés ternaires font baisser de plus en plus le rendement p. 100 d'aliment consommé, contrairement au glucose, aliment type.

3° Les acides précédents peuvent se classer ainsi, d'après leur action nutritive décroissante : acide succinique, malique ou citrique, tartrique et, bien loin derrière, l'acide oxalique.

Le premier fournit des rendements légèrement inférieurs à ceux obtenus avec le glucose et l'acide tartrique est un aliment médiocre. Les acides malique et citrique sont à peu près équivalents ; aussi, tantôt c'est celui-ci qui est supérieur à celui-là, tantôt c'est l'inverse qui se produit.

Toutes ces différences dans leurs qualités nutritives découlent très probablement de leur toxicité spécifique.

4° Si l'on cherche à établir une relation entre la constitution chimique de ces corps et leur pouvoir nutritif, on remarque que, utilisés comme ils l'ont été, c'est-à-dire à des doses telles qu'ils renferment le même poids de carbone et la même acidité (1), ils sont d'autant plus alibiles qu'ils opposent à la grande toxicité des radicaux acides ($\text{COOH}-\text{COOH}$) un plus grand nombre de fonctions carbures (CH)² et moins de fonctions alcooliques (CHOH et COH).

5° L'augmentation d'acidité du milieu glucosé, plusieurs fois signalée avec d'autres Moisissures, est due ici à de l'acide nitrique libre. Si ce phénomène n'est pas constatable dans les milieux acides, tels qu'ils sont constitués, cet acide minéral est néanmoins libéré de sa combinaison ammoniacale. Et sa production est bien générale, car elle dépend de la nutrition du *Penicillium*, partant de sa vie même. Très certainement il en est de même pour beaucoup d'autres Champignons, sinon pour tous : la condition *sine qua non*, est que le Végétal puise de préférence son azote à l'ammoniaque.

6° Au fur et à mesure que la teneur en ammoniaque des milieux de culture décroît, celle de l'acide nitrique libre augmente ; et, lorsque la première parvient à son *minimum*, la seconde atteint son *maximum*. Ensuite de l'ammoniaque se régénère et de l'acide nitrique disparaît, très probablement par neutralisation, ce qui entraîne une diminution de l'acidité des liquides. Une partie, plus ou moins grande, d'acide nitrique est également assimilée par le *Penicillium* avant l'utilisation complète de l'acide organique, selon les exigences en azote du mycélium.

7° Dans les cultures, surtout lorsque le développement est assez lent, le rendement atteint son maximum bien avant celui du poids sec. Et le maximum du poids sec se produit dans le début de la sporulation, qui elle-même précède un peu la consommation totale de l'acide organique.

8° Les rendements p. 100, qu'ils soient déterminés aussitôt après l'assimilation complète des acides, comme cela se fait

(1) Sauf l'acide oxalique.

habituellement, ou bien au moment où les poids secs sont maxima, gardent entre eux les mêmes rapports, bien que leurs valeurs absolues, pour le même aliment, soient très différentes.

9° Après la disparition de l'acide organique dans les milieux, les poids secs et les rendements d'une même culture diminuent dans de grandes proportions : il se produit une autophagie du Végétal et de l'ammoniaque est diffusé dans le liquide sous-jacent.

10° Les sels acides organiques de sodium sont également nutritifs, mais l'acide libre seul est assimilé : l'acide combiné reste intact.

11° Le classement de ces sels acides d'après leur action favorable décroissante, en se basant sur les poids secs maxima, est la suivante : succinate, citrate monosodique, malate, tartrate et citrate bisodique.

12° La comparaison des rendements obtenus avec deux cultures développées, l'une en présence d'un sel acide, l'autre de son acide libre correspondant, les milieux renfermant la même quantité de carbone, est tout à l'avantage du sel acide. Il en est également de même, fait assez étrange, si l'on compare les rendements et poids secs maxima de deux semblables cultures, mais dont le milieu « sel acide » renferme une teneur en carbone double (1) de celle du milieu « acide libre », ce qui réalise pour ces liquides une même acidité organique au point de vue titrimétrique. Autrement dit, d'une façon plus explicite, deux acidités organiques égales, volumétriquement, offertes au *Penicillium*, l'une constituée par un sel acide, l'autre par l'acide libre correspondant, le premier possède un pouvoir nutritif plus grand que le second. Il y a évidemment là une relation, de cause à effet, entre les énergies chimiques des diverses acidités de ces corps polyvalents et leur toxicité. J'ai également constaté très nettement le même fait chez les Algues et, moins accentué, chez les Phanérogames.

13° Les sels neutres organiques de sodium, dans un milieu neutre, ne sont pas du tout assimilables : ce qui confirme bien

(1) On a vu que la moitié seule de ce carbone, celle qui existe à l'état d'acide libre, est utilisée par le *Penicillium*.

les résultats négatifs obtenus avec la partie combinée des sels acides.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES DU TRAVAIL

Chaque partie de ce travail se termine par des conclusions très détaillées que j'estime inutile de résumer ici à nouveau, et auxquelles je renvoie le lecteur. En raison de la biologie spéciale des plantes étudiées, appartenant d'ailleurs aux groupes les plus différents que sont les Phanérogames, les Algues et les Champignons, il n'y a pas lieu de s'étonner que les conclusions particulières à chacun de ces groupes puissent difficilement se résumer en une formule d'ensemble. Néanmoins, de mes recherches sur la nutrition carbonée des Plantes à l'aide des acides organiques, libres et combinés, je puis tirer les conclusions générales suivantes :

Les acides succinique, malique, citrique, tartrique et très probablement oxalique, libres ou combinés, sont parfaitement absorbés et assimilés par les Végétaux. Et l'ordre dans lequel je viens de les citer est, pour les acides libres, celui de leur action nutritive décroissante ou de leur toxicité croissante (1). Dans les conditions pondérables où ils ont été expérimentés, la nocivité des acides libres, qui est due aux fonctions acides, est d'autant plus atténuée que le noyau, s'il existe, de ces composés renferme plus de radicaux carbures et moins de radicaux alcooliques.

Deux acidités organiques, volumétriquement égales, offertes à la Plante, l'une à l'état d'acide organique libre et l'autre sous la forme du sel acide correspondant, la première est plus toxique et partant moins nutritive que la seconde.

Des différences spécifiques, d'ordre physiologique, existent, au point de vue alibile, entre les groupes végétaux précédents, d'une part et les acides organiques à l'état libre ou combiné, d'autre part. C'est ainsi que les Phanérogames utilisent indistinctement les acides libres et leurs combinaisons potassiques ; les Algues, très sensibles à l'acidité du milieu, n'assimilent que les sels neutres de potassium. Quant aux Champignons, ils

(1) Pour la même quantité de carbone et la même acidité.

tirent parti des acides organiques libres, de l'acide libre seul des sels acides de sodium et pas du tout de l'acide des sels neutres ou de l'acide combiné des sels acides (1).

Les acides organiques, libres et combinés, si fréquemment rencontrés chez les Phanérogames y jouent, en dernière analyse, un rôle nutritif manifeste ; il resterait à préciser le processus interne de transformation de ces composés.

En terminant l'exposé de ce travail, fait au laboratoire de Botanique de la Sorbonne, je tiens à remplir un bien agréable devoir en remerciant d'abord Monsieur le Professeur G. Bonnier de la bienveillante hospitalité qu'il m'a accordée dans son laboratoire où il m'a constamment témoigné tant de sympathie. Je prie ensuite Monsieur le Professeur Molliard, qui pendant quatre années consécutives a suivi journallement mes recherches et les a encouragées de ses si précieux conseils, d'accepter l'hommage de ma profonde et inaltérable gratitude.

(1) Le sodium n'ayant aucune action nutritive sur le *Penicillium*, on peut m'objecter que, peut-être, c'est la raison pour laquelle ses sels organiques ne sont pas assimilés. Mais, des expériences poursuivies avec les sels organiques de potassium m'ont donné les mêmes résultats négatifs. Le *Sterigmatocystis nigra* également, en milieu malate neutre de potassium, ne se développe pas : il en serait évidemment de même avec les autres sels organiques.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
--------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

Nutrition carbonée des Phanérogames à l'aide des acides organiques libres et combinés.

Historique.....	4
Plan	8

CHAPITRE PREMIER

Technique.

1° Choix de la plante, sujet d'expérience.....	11
2° Triage des graines de Radis.....	11
3° Stérilisation des graines de Radis.....	12
4° Ensemencement et germination des graines de Radis. Repiquage des plantules.....	13
5° Description du tube à culture. Milieux nutritifs employés. Préparation des tubes à culture. Exposition des plantes.....	13
6° Détermination de la toxicité des acides organiques. Leurs concentrations adoptées.....	16
7° Préparation des sels acides et neutres de potassium ainsi que de leurs milieux.....	17
8° Récolte des pieds de Radis. Leurs poids frais et sec. Dosage de l'eau et des cendres.....	17
9° Détermination des diverses acidités végétales : acidité relative, acidité combinée et acidité totale.....	18
10° Échanges gazeux à l'obscurité : coefficient respiratoire et intensité respiratoire.....	19
11° Échanges gazeux à la lumière : analyse de l'air confiné des tubes à culture.....	20

CHAPITRE II

Nutrition carbonée à l'aide des acides organiques libres.

§ 1. — <i>Influence des acides organiques sur le rendement et la turgescence.</i>	24
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	25
2° — sable.....	26
3° — ouate.....	27
Stabilité des acides organiques. Leur absorption par les racines,...	27
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	30
2° — sable.....	31
3° — ouate.....	32

Conclusions du paragraphe.....	33
§ 2. — <i>Influence des acides organiques sur l'acidité interne</i>	34
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	35
2° — sable.....	36
3° — ouate.....	36
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	37
2° — sable.....	38
3° — ouate.....	39
Conclusions du paragraphe.....	39
§ 3. — <i>Influence des acides organiques sur les échanges gazeux</i>	40
A. — Dans l'obscurité : Détermination du quotient et de l'intensité respiratoires des pieds de Radis développés en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	41
2° — sable.....	42
3° — ouate.....	43
B. — A la lumière : Détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec et sans plante, pendant la durée de la culture développée :	
1° Sur substratum ponce.....	44
2° — sable.....	44
3° — ouate.....	44
Conclusions du paragraphe.....	45
Conclusions du deuxième chapitre.....	46

CHAPITRE III

Nutrition carbonée à l'aide des sels acides organiques.

§ 1. — <i>Influence des sels acides sur le rendement et la turgescence</i>	48
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	48
2° — sable.....	49
3° — ouate.....	50
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	51
2° — sable.....	52
3° — ouate.....	53
Conclusions du paragraphe.....	54
§ 2. — <i>Influence des sels acides sur l'acidité interne</i>	54
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	54
2° — sable.....	55
3° — ouate.....	55
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	56
2° — sable.....	57
3° — ouate.....	57
Conclusions du paragraphe.....	58
§ 2. — <i>Influence des sels acides sur les échanges gazeux</i>	58
A. — Dans l'obscurité : détermination du quotient et de l'intensité respiratoire des pieds de Radis développés en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	59
2° — sable.....	59

3° — ouate.....	60
B. — A la lumière : Détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec et sans plante, pendant la durée de la culture développée :	
1° Sur substratum ponce.....	60
2° — sable.....	61
3° — ouate.....	61
Conclusions du troisième chapitre.....	62

CHAPITRE IV

Nutrition carbonée à l'aide des sels neutres organiques.

§ 1. — <i>Influence des sels neutres sur le rendement et la turgescence</i>	64
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	64
2° — sable.....	65
3° — ouate.....	65
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	66
2° — sable.....	67
3° — ouate.....	68
Conclusions du paragraphe.....	69
§ 2. — <i>Influence des sels neutres sur l'acidité interne</i>	69
A. — Cultures en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	69
2° — sable.....	70
3° — ouate.....	70
B. — Cultures en atmosphère confinée :	
1° Sur substratum ponce.....	71
2° — sable.....	72
3° — ouate.....	72
Conclusions du paragraphe.....	72
§ 3. — <i>Influence des sels neutres sur les échanges gazeux</i>	72
A. — Dans l'obscurité : Détermination du quotient et de l'intensité respiratoire des pieds de Radis développés en atmosphère libre :	
1° Sur substratum ponce.....	73
2° — sable.....	73
3° — ouate.....	74
B. — A la lumière : Détermination de la quantité d'oxygène ou d'acide carbonique dégagé dans l'atmosphère confinée des tubes avec et sans plante, pendant la durée de la culture développée :	
1° Sur substratum ponce.....	74
2° — sable.....	74
3° — ouate.....	74
Conclusions du quatrième chapitre.....	75

CHAPITRE V

§ 1. — <i>Morphologie des Radis développés dans les divers milieux organiques</i>	76
§ 2. — <i>Action nutritive comparée, sur le Radis, des acides organiques libres, de leurs sels acides et neutres de potassium</i>	77
Conclusions générales de la première partie.....	79

DEUXIÈME PARTIE

Nutrition carbonée des Algues à l'aide des acides organiques libres et combinés.

Historique et plan.....	82
-------------------------	----

CHAPITRE PREMIER

Technique.

1° Choix de l'Algue, sujet d'expérience.....	85
2° Composition du milieu de culture	86
3° Détermination de la toxicité des acides libres et de leurs combinaisons potassiques	86
4° Concentrations et préparation des milieux organiques.....	87
5° Récolte de l'Algue. Poids sec.....	88
6° Dosage des acidités initiale et finale des milieux.....	89
7° Échanges gazeux à la lumière : détermination du quotient respiratoire.....	89

CHAPITRE II

Cultures d'Algues en atmosphère libre.

§ 1. — Rendement des cultures de <i>Chlorella</i> en présence des acides organiques libres.....	90
§ 2. — Rendement des cultures de <i>Chlorella</i> en présence des sels acides organiques de potassium.....	93
§ 3. — Rendement des cultures de <i>Chlorella</i> en présence des sels neutres organiques de potassium.....	95
§ 4. — Échanges gazeux à l'obscurité : Détermination du quotient respiratoire de <i>Chlorella</i> développé dans les divers milieux expérimentés.....	97

CHAPITRE III

Cultures d'Algues en atmosphère confinée.

Rendement des cultures de <i>Chlorella</i> en présence des acides organiques libres et de leurs sels de potassium.....	98
Conclusions générales de la deuxième partie.....	100

TROISIÈME PARTIE

Nutrition carbonée des Champignons à l'aide des acides organiques libres et combinés.

Historique et plan.....	101
-------------------------	-----

CHAPITRE PREMIER

Technique.

1° Choix du Champignon, sujet d'expérience.....	107
2° Milieux de culture adoptés.....	107

3° Concentrations des acides organiques à expérimenter.....	107
4° Préparation des milieux renfermant les sels acides et neutres de sodium.....	109
5° Récipients employés pour le développement des cultures.....	109
6° Ensemencement des milieux.....	109
7° Récolte du Mycélium. Détermination de son poids sec. Calcul du rendement pour 100 grammes d'aliment consommé.....	110
8° Dosage des acidités totale, fixe et volatile des milieux constitués avec les acides libres.....	111
9° Dosage des acides organiques libres et combinés dans les milieux renfermant les sels acides organiques.....	112
10° Dosage de l'ammoniaque existant dans les milieux de culture durant le développement du <i>Penicillium</i>	113

CHAPITRE II

Nutrition carbonée à l'aide des acides organiques libres.

§ 1. — Détermination des poids secs et des rendements pour 100 grammes d'aliment consommé des cultures de <i>Penicillium glaucum</i> :	
A. — Au moment où tous les acides organiques, utilisés à doses croissantes, sont complètement assimilés.....	116
Interprétation des résultats obtenus.....	117
B. — Pendant et après la période d'utilisation des acides organiques.....	118
1° A divers moments fixés par les états végétatifs suivants :	118
a. Au début de la sporulation ;	
b. En pleine sporulation ;	
c. En sporulation avancée ;	
d. Lorsque l'assimilation des acides est complète.	
2° A des intervalles de temps courts et de plus en plus éloignés de l'ensemencement des cultures.....	120
Conclusions du premier paragraphe.....	127
§ 2. — Variations des acidités totale, fixe et volatile des milieux de culture pendant le développement du <i>Penicillium</i> :	
1° Variations des acidités totales.....	128
2° Variations des acidités fixe et volatile.....	130
§ 3. — Variations de l'ammoniaque restant dans les milieux de culture pendant le développement du <i>Penicillium</i>	133
Interprétation des résultats obtenus.....	135

CHAPITRE III

Nutrition carbonée à l'aide des sels acides organiques.

§ 1. — Poids secs et rendements pour 100 grammes d'aliment consommé, des cultures de <i>Penicillium</i> pendant son développement.....	138
Interprétation des résultats obtenus.....	143
§ 2. — Variations de l'acidité apparente, de la teneur en ammoniaque et en acide organique des milieux de culture de <i>Penicillium</i> pendant son développement :	
1° Variations des acidités apparentes et de la teneur totale en acide organique.....	143
2° Variations de l'ammoniaque.....	144
§ 3. — Nutrition carbonée à l'aide des sels neutres organiques.....	148
Conclusions générales de la troisième partie.....	148
CONCLUSIONS GÉNÉRALES DU TRAVAIL.....	151

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

MINÉRALOGIE. — Gîtes cuprifères algériens.

ZOOLOGIE. — Les Sporozoaires.

Vu et approuvé : Paris, le 5 février 1914.

Le Doyen de la Faculté des Sciences.

P. APPELL.

Vu et permis d'imprimer : Paris, le 5 février 1914.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

L. LIARD.

